

Editorial**Nutrición hospitalaria incluida en Science Citation Index Expanded.
Factor de impacto en 2008**J. M. Culebras¹ y A. García de Lorenzo²¹Director de Nutrición Hospitalaria. ²Redactor Jefe de Nutrición Hospitalaria. España.

Desde el 28 de noviembre de 2006, fecha en que uno de nosotros (JC), visitó el Thompson Institute en Philadelphia, propietario actual del Institute of Scientific Information (ISI), sabíamos que NUTRICIÓN HOSPITALARIA había sido indizada en Science Citation Index Expanded (también denominado *SciSearch*®) y en *Journal Citation Reports/Science Edition* con efecto retroactivo a Vol. 21 (1) 2006. Quiere decir esto que a lo largo de 2006 y 2007 se hará un seguimiento de todos los artículos citables publicados en NUTR HOSP. A su vez, las citas que aparecen servirán para el cómputo y, con todo, se elaborará nuestro factor de impacto de 2008, que se hará público en el JCR de 2009.

Se trata de un anhelo y un logro largamente deseado. En nuestro afán de mejorar la calidad científica y la visibilidad de NUTR HOSP venimos trabajando de manera intensiva desde el primer número de NUTRICIÓN HOSPITALARIA, aparecido en 1985. Veintidós años de esfuerzo continuado. Nos hemos aproximado a otras sociedades científicas y congresos. Nos hemos hecho órgano oficial de la Sociedad Española de Nutrición (SEN) y de la Federación Española de Sociedades de Nutrición (FESNAD)¹. Hemos publicado *abstracts* de congresos y reuniones de manera regular, aparte de los nuestros propios y los de FESNAD, los de SEN y los de Ilas- ASPEN y, de manera ocasional, los de la Sociedad Andaluza de Nutrición Clínica y Dietética, los del Grupo Español Cooperativo para el estudio del Trasplante Intestinal, los de la Academia Europea de Ciencias Nutricionales (EANS) y otros. Hemos publicado suplementos monográficos de cursos, reuniones y de temas de interés general con creciente frecuencia. (En 2006 fueron cuatro suplementos). Hemos aumentado el número de páginas por

volumen, habiendo superado ampliamente el millar en 2006...

Hicimos un estudio bibliométrico en 1999 que se publicó, por entregas, en NUTR HOSP²⁻⁶, y nos sirvió para conocer nuestras fortalezas y nuestras debilidades. Todo ello ha supuesto, de manera sucesiva, la incorporación en Index Medicus y Medline en 1990, el premio de la Real Academia de Medicina en 1999, la edición electrónica de la revista en 2000, la inclusión en Embase (Excerpta Medica), Chemical Abstracts, Cinahl, Cochrane Plus, Ebsco, Índice Médico Español, PreIBECs, IBECs, Senior, ScIELO, Bireme, Cancerlit, Aidsline, Toxline y Health Planning Administration. En 2005 el Instituto López Piñero nos clasificaba como la revista de Nutrición, escrita en español, de mayor visibilidad, según el factor de impacto calculado por ellos.

En 2003 el Instituto Carlos III, dentro de su programa de Acciones Especiales para publicaciones Generales Periódicas concedió a la SENPE la ayuda 03/8026 "para contribuir a la más amplia difusión a través de INTERNET de la revista Nutrición Hospitalaria, Órgano Oficial de SENPE". Es de estricta justicia decir que, aun cuando hemos trabajado día a día, número a número, durante estos veintidós años, duramente, en favor de la calidad y la visibilidad de la revista, y lo decimos sin rubor de ningún tipo, no habríamos conseguido el logro que anunciamos en este editorial si no hubiéramos contado con esta ayuda institucional, que nos abrió las puertas de ScIELO, ¡que bonita fonética tiene esta frase!, el contacto con la Biblioteca Virtual de Ciencias de la Salud y nos inyectó un respiro económico. Ello permitió que lideráramos la Declaración de Montevideo⁷ y que nos hiciéramos órgano oficial de la Federación Española de Sociedades de Nutrición (FESNAD) y de la Federación Latinoamericana de Nutrición Parenteral y Enteral (FELANPE)⁸. Así paliamos el último escollo, la no internacionalidad de nuestra revista, que en 2003 nos impidió entrar en SCI. Actualmente, cuatro de cada diez artículos publicados en NUTR HOSP vienen de fuera de España, y no solo de Portugal o

Correspondencia: J. M. Culebras
E-mail: jmculebras@telefonica.net

Recibido: 25-XII-2006.
Aceptado: 25-XII-2006.

del continente latinoamericano, sino de otros países europeos, de Estados Unidos o de algunos tan distantes como la India.

En Current Contents/Clinical Medicine hay 6.592 revistas, 60 en el apartado de Nutrición y Dietética y de ellas solo dos, Archivos Latinoamericanos de Nutrición y Nutrición Hospitalaria, en castellano.

De siempre hemos defendido el idioma español como vehículo científico⁹. No en vano es la lengua de 600 millones de habitantes. Y como tal, aparte de otras acciones de defensa del castellano que tenemos *in mente*, es ahora nuestra responsabilidad la de administrar este vehículo científico que cobra un renovado brío, para que sea útil a la comunidad hispano parlante.

Para atender la curiosidad de los impacientes, hemos hecho un cálculo aproximado, basándonos en las citas recibidas en 2006, de nuestro factor de impacto. Si la frecuencia de citas de la revista se mantiene en 2007, sin variar el número de artículos potencialmente citables, en 2008 tendremos un factor de impacto de 1,35.

Con la inclusión de Nutr Hosp. en SCI no damos por concluida nuestra labor al frente de la revista. Es más, casi nos atrevemos a decir que ahora es cuando realmente se inicia la andadura del órgano oficial de SENPE al que, en el ya lejano año 1977, da vértigo pensar en el tiempo que ha transcurrido, ¡treinta años! le deseábamos, en el primer editorial del Boletín de SENPE, antecesor de NUTR HOSP “... *ojalá que este Boletín de Nutrición Parenteral, que hoy aparece tí-*

midamente, sin compromiso de números posteriores, se convierta a la vuelta de pocos años en un vehículo científico que haya merecido la pena hacer andar”¹⁰.

Referencias

1. Culebras JM, García de Lorenzo A. Nutrición Hospitalaria, Órgano Oficial de FESNAD. *Nutr Hosp* 2005; 20 (1): 1.
2. Iglesias Vázquez E, Culebras JM, García de Lorenzo A. Evolución normativa de la revista NUTRICIÓN HOSPITALARIA. *Nutr Hosp* 2000; 15 (4): 125-39.
3. Iglesias Vázquez E, Culebras JM, García de Lorenzo A. Evolución de la revista NUTRICIÓN HOSPITALARIA (I) autores, instituciones, artículos. *Nutr Hosp* 2001; 16 (4): 126-32.
4. Iglesias Vázquez E, Culebras JM, García de Lorenzo A. Evolución de la revista NUTRICIÓN HOSPITALARIA (II) Productividad y colaboración. *Nutr Hosp* 2001; 16 (6): 268-79.
5. Iglesias Vázquez E, Culebras JM, García de Lorenzo A. Evolución de la revista NUTRICIÓN HOSPITALARIA (III) Tiempos de demora, materias y citación. *Nutr Hosp* 2002; 17 (1) : 34-42.
6. Iglesias Vázquez E, Culebras JM, García de Lorenzo A. Evolución de la revista NUTRICIÓN HOSPITALARIA (IV) Difusión y visibilidad. *Nutr Hosp* 2002; 17 (2): 72-74.
7. Culebras JM, Gil A, García de Lorenzo A, Angarita C, Atalah E, Carrasco F, Falção MC, Crivelli A, Faintuch J, Klaasen J, Kliger G, Mendoza L, Sotomayor J, Vannucchi H, Velásquez Alva C, Waitzberg D. Declaración de Montevideo: Compromiso de las Asociaciones y de las Revistas Científicas que conforman la Federación Latino Americana de Nutrición Parenteral y Enteral (FELANPE) y la Sociedad Latino Americana de Nutrición (SLAN). *Nutr Hosp* 2006; 21 (1): 2.
8. Culebras JM, García de Lorenzo A. Nutrición Hospitalaria, Órgano Oficial de FELANPE. *Nutr Hosp* 2004; 19(6):317-8
9. Consejo Editorial Iberoamericano. El idioma español en la Ciencia. *Nutr Hosp* 2006; 21 (1): 1.
10. Culebras JM. Editorial. Boletín de SENPE, 1979: 1: 1-3.

Editorial

Iberoamérica unida por la red de malnutrición

C. Wanden-Berghe, J. Sanz-Valero, J. Guardiola, J. M. Culebras, A. García de Lorenzo y Mateos, A. Nolasco Bonmatí, J. Quiles Izquierdo; Grupo Coordinador Red MeI-CYTED

Red de Malnutrición en Iberoamérica (Red MeI) - CYTED. España.

El Consejo Directivo del Programa “Ciencia y Tecnología para el Desarrollo” CYTED, en su reunión del pasado 5 de diciembre, decidió financiar la propuesta presentada para la creación de la Red de Malnutrición en Iberoamérica a la convocatoria 2006.

CYTED - Ciencia y Tecnología para el Desarrollo

El “Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED)” es un programa internacional multilateral de cooperación científica y tecnológica de ámbito iberoamericano y carácter horizontal, creado en 1984 mediante un Acuerdo Marco Interinstitucional suscrito por los países que forman la Comunidad Iberoamericana de Naciones. La mejor descripción del CYTED la podemos encontrar en su convocatoria de acciones 2006, disponible en su página Web [www.cytcd.org].

El programa CYTED tiene como objetivo principal contribuir al desarrollo armónico y sostenible de la Región Iberoamericana mediante la colaboración y cooperación entre los Organismos Nacionales de Ciencia y Tecnología, los Organismos de Fomento de la Innovación, los grupos de investigación de Universidades, los centros de I+D y las empresas pertenecientes a estos países. Ha generado 76 Redes Temáticas, 95 Acciones de Coordinación de Proyectos de Investigación y 166 Proyectos de Innovación con participación de más de 10.000 científicos y tecnólogos iberoamericanos y desde 1995 se encuentra formalmente incluido entre los Programas de Cooperación de las Cumbres Iberoamericanas de Jefes de Estado y de Gobierno.

Red de Malnutrición Iberoamericana -MeI

La Red nace del reconocimiento de que la malnutrición constituye algo más que una línea temática que

alberga un problema concreto, para el que no existe capacidad o masa crítica suficiente si se aborda aisladamente. La malnutrición es un reto a la civilización, un desafío al conocimiento y una provocación a la capacidad de intervención científica, social y política. Un problema para el que existen experiencias y conocimientos interdisciplinares, que aparecen disgregados en varias organizaciones, sin conexión o en el mejor de los casos poco conectadas.

La Red de Malnutrición en Iberoamérica (Red MeI) no es un proyecto de investigación común, porque los intereses de los asociados en torno al tema se explicitan a través de diversos objetivos: intercambio de información, intercambio de experiencias, movilidad de los investigadores, formación, especialización, capacitación, homologación metodológica, coordinación de líneas de investigación, transferencia de conocimientos, transferencia de tecnologías y generación de proyectos conjuntos de investigación.

Se han reunido seis países Iberoamericanos (fig. 1) cada uno de ellos aportando un mínimo de un grupo investigador y otros tres países más: Argentina, México y Colombia han manifestado su interés de participar de una manera formal. La Red está abierta a las propuestas de colaboración de los países de Iberoamérica.

Tenemos el convencimiento de que el éxito de la red requiere establecer compromisos que ofrezcan la certeza de la consecución de las actividades de la Red. Por ello es necesario aplicar un plan de contingencias que reduzca la incertidumbre que se pudiera presentar en la interacción de los componentes de la Red.

El método que se propone se basa en el principio de participación, de continuidad y en el principio holístico de coordinación e integración. Los valores lingüísticos y culturales compartidos por la Comunidad Iberoamericana aportan un valor añadido a cualquier esfuerzo de cooperación, como ya se ha demostrado en los acuerdos previos de publicaciones científicas o en el compromiso de potenciar el español como lengua de intercambio. Para reducir las variaciones que se pueden esperar en el comportamiento de los diferentes grupos integrantes de la Red y optimizar al má-

Correspondencia: Carmina Wanden-Berghe
Centro Superior de Investigación en Salud Pública
E-mail: carminaw@telefonica.net

Recibido: 10-I-2007.
Aceptado: 20-I-2007.

País	Institución	Líderes de grupo	Número de investigadores
	GANEP-Grupo de Nutrición Humana Hospital Fernandes Távora Fundação Oswaldo Cruz	Dan L. Waitzberg Alessandro Pontes-Arruda Luis David Castiel	2 3 4
	Universidad de Costa Rica	Patricia Sedó Masís	3
	Pontificia Universidad Católica de Chile	Francisco Mardones Santander	6
	Centro Superior de Investigación de Salud Pública/Agencia Valenciana para la Salud/ Universidad Cardenal Herrera CEU	Carmina Wanden-Berghe	8
	Hospital del Servicio Andaluz de Salud / Universidad de Cádiz	Antonio Pérez de la Cruz Amelia Rodríguez Martín	5
	Universidad Politécnica de Valencia	Vicente Hernández García	4
	Universidad de Granada	Ángel Gil Hernández	7
	Hospital Universitario Vall d'Hebrón	Mercè Planas Vila	5
	Universidad de Granada	Emilio Martínez de Victoria	8
	Universidad de Alicante	Josep Bernabéu Mestre	13
	Universidad de Lisboa	María E. Assis Camilo	4
	Universidad Central de Venezuela / Fundación Bengoa	Marian Araújo	8

Fig. 1.—Integrantes de la Red MeI.

ximo los resultados de las actividades, la planificación se desarrollará de forma que cada uno de los países integrantes deberá liderar como mínimo una de las actividades de la misma. Al mismo tiempo, sería recomendable que todos los países participaran en el desarrollo de las demás actividades que respondan a su área de interés.

El grupo coordinador de la Red se propone cuidar del desarrollo de las acciones, asegurar la difusión de la información entre los socios, organizar reuniones periódicas de trabajo con los coordinadores de cada país integrante, estableciendo mediante consenso el nivel de participación en cada una de las actividades de los grupos buscando la comunicación entre los socios, promoviendo la interacción en proyectos de investigación, desarrollando relaciones directas y duraderas, incentivando la participación internacional, multidisciplinar y multiprofesional, reforzando las ca-

pacidades de acción, creando canales ágiles para tal fin.

La Red se organiza como núcleos alrededor de los proyectos o acciones a desarrollar de forma que facilite la comunicación y la participación (fig. 2).

Beneficios esperados de la Red MeI

1. Fortalecimiento de la Presencia de Iberoamérica en la investigación

La importancia de aunar los esfuerzos de muchos investigadores que llevan tiempo estudiando los problemas relacionados con la malnutrición y la salud, creando una Red Iberoamericana para el Estudio de la Malnutrición, consorcio que trabajará de manera totalmente coordinada, pretendiendo integrarse a su vez en

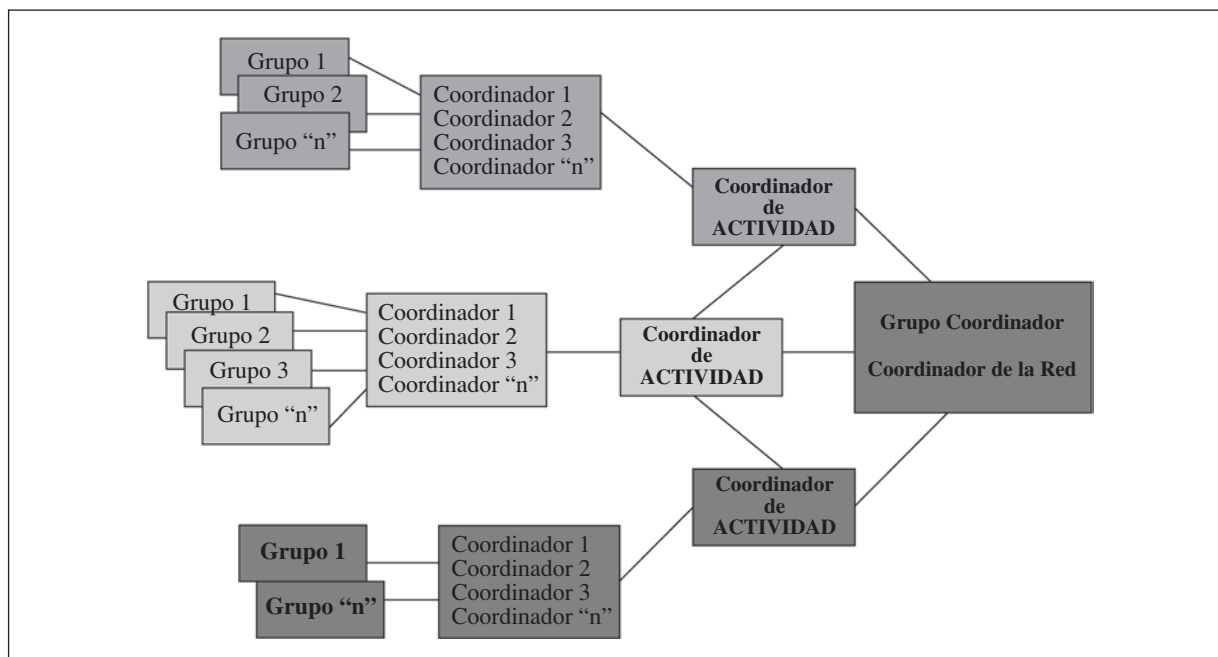


Fig. 2.—Organigrama funcional de la Red MeI.

proyectos, grupos o redes de investigación a nivel global, fortaleciendo la presencia de las instituciones de salud iberoamericanas en las redes globales.

Los beneficios pueden ser categorizados en distintos niveles: avances en la estructura organizacional con elevación del desempeño (performance) técnico, es decir, la aplicación del conocimiento y de la tecnología de la información y comunicación que permite maximizar las ventajas de una red para actuar con eficiencia en términos de investigación y difusión de contenidos acerca de malnutrición.

Generar condiciones adecuadas para ampliar los procesos organizativos de la gestión en los países que permita optimizar el uso de recursos escasos y su monitoreo en relación a reducir los niveles de malnutrición.

Aumentar la capacidad de obtener la difusión de resultados de investigación que muestren evidencias de técnicas, productos o servicios que promuevan avances en las condiciones de nutrición y salud que pueden ser atribuidas a las estrategias de combate y prevención de la malnutrición y sus causas, sea por cuidados ofrecidos y/o tecnologías introducidas.

2. Contribuir a la consolidación del Espacio Iberoamericano de salud con criterios de Calidad

Un sistema de Comunicación y Documentación Científica con criterios de calidad (tarea que la Red va a desarrollar) que exportará el conocimiento a nivel integral, siendo de gran utilidad para el desarrollo de planes globales y locales de salud pública, contribuyendo a la mejora de la salud y calidad de vida de los ciuda-

danos iberoamericanos y, en definitiva, a que el llamado Espacio Iberoamericano de Salud, sea una realidad.

3. Rentabilización de la Investigación

Estamos convencidos que aunar los potenciales investigadores, de los grupos Iberoamericanos en una Red, es la mejor forma de rentabilizar los resultados de la investigación, quedando a disposición de la comunidad científica Iberoamericana.

Llamada a la participación

La Red pretende estar abierta a las iniciativas de toda la comunidad científica Iberoamericana con interés en la malnutrición, desde todos los niveles del espectro investigador y formador. De esta forma queremos invitarles a la participación, proponiendo las acciones que sean de su interés, así como a sumarse a los proyectos que se generen desde los grupos integrantes de la Red MeI.

Referencias

1. Culebras JM, García de Lorenzo A, Angarita C, Atalah E, Carrasco F, Falcao MC, Crivelli A, Faintuch J, Klaasen J, Kliger G, Mendoza L, Sotomayor J, Vannuchi H, Velásquez Alva C, Waitzberg D. Declaración de Montevideo: Compromiso de las Asociaciones y de las Revistas Científicas que conforman la Federación Latino Americana de Nutrición Parenteral y Enteral (FELANPE) y la Sociedad Latino Americana de Nutrición (SLAN). *Nutr Hosp* 2006; 21 (1): 2-3.
2. El Consejo Editorial Iberoamericano. El idioma español en la Ciencia. *Nutr Hosp* 2006; 21 (1): 1.

Revisión

Effects of a very low birth weight newborn on family: literature review

T. Konstantyner, H. P. Leite, J. A., A. C. Taddei

Discipline of Nutrology. Department of Pediatrics. Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). Brazil.

Abstract

Objective: The present study is a literature review to identify the effects of a very low birth weight newborn on family. This is an important instrument to clarify epidemiological issues and to suggest the directions for health policy efforts.

Method: A three-step review was carried out using databases of journals indexed for Medline/Lilacs/Scielo/Cochrane published between 1966 and 2005 using specific criteria of inclusion. The first step selected 12 articles from 2,889 when searching for the keyword "very low birth weight infant"; the second step used the crossing of keyword "premature infant" with other pertinent keywords and terms resulting in 191 articles generating 7 more articles matching the criteria of inclusion. The third step was to analyze the references of articles in steps 1 and 2 ($12 + 7 = 19$), selecting 3 additional ones totaling 22 selected articles.

Result: Evidences in literature state that the families of very low birth weight newborns suffer potential negative effects on their operational dynamics, which is associated to the clinical seriousness, the age and the neuropsychomotor development of such children. It seems that the mother is the most affected member due to the situation imposed to the family, and the one who needs psychosocial support more frequently.

Conclusion: The number of existing studies is still insufficient to clarify whether the effects on the family considering all their aspects are preponderantly positive or negative.

(Nutr Hosp. 2007;22:138-45)

Key words: *Very low birth weight infant. Premature infant. Family. Stress. Stressful events. Life change events. Review literature.*

Correspondence: José Augusto de Aguiar Carrazedo Taddei
Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)
Disciplina de Nutrologia do Departamento de Pediatria
Rua Loefgreen, 1.647
São Paulo (SP) - Brasil - CEP 04040-032
E-mail: taddei.dped@epm.br / nutsec@yahoo.com.br

Recibido: 2-III-2006.
Aceptado: 6-XI-2006.

EFECTOS DEL PESO EXTREMADAMENTE BAJO AL NACIMIENTO SOBRE LA FAMILIA: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Resumen

Objetivo: este estudio es una revisión bibliográfica para intentar identificar los efectos que el recién nacido de peso muy bajo tiene en una familia. Este es un instrumento importante para aclarar los aspectos epidemiológicos y sugerir las directrices en los esfuerzos de políticas sanitaria.

Método: se realizó una revisión en tres pasos empleando las bases de datos de las revistas indexadas en Medline/Lilacs/Scielo/Cochrane con fecha de publicación entre 1966 y 2005, utilizando criterios de inclusión específicos. El primer paso seleccionó 12 artículos de 2.899 cuando se buscó el término clave "very low birth weight infant"; el segundo paso utilizó la combinación de las palabras clave "premature infant" con otros términos clave pertinentes, lo que produjo 191 artículos que, a su vez, originaron 7 artículos más que cumplían los criterios de inclusión. El tercer paso consistió en analizar las citas de los artículos en los pasos 1 y 2 ($12 + 7 = 19$), seleccionando otros 3 más, con un total de 22 artículos seleccionados.

Resultado: las evidencias bibliográficas afirman que las familias con recién nacidos de peso muy bajo al nacimiento sufren efectos potencialmente negativos en su dinámica operativa, lo que se asocia con la gravedad clínica, la edad y el desarrollo neuropsicomotor de tales niños. La madre parece ser el miembro más afectado dada la situación impuesta a la familia, y también aquel que requiere apoyo psicosocial con mayor frecuencia.

Conclusión: el número de estudios exigentes sigue siendo insuficiente para aclarar si los efectos sobre la familia, considerando todos sus aspectos, son predominantemente positivos o negativos.

(Nutr Hosp. 2007;22:138-45)

Palabras clave: *Lactante de peso muy bajo al nacimiento. Lactante prematuro. Estrés familiar. Acontecimientos angustiantes. Acontecimiento de cambio de vida. Revisión bibliográfica.*

Introduction

An expressive increase of the survival rate among very low birth weight newborns (VLBW) with birth weight less than 1,500 g, receiving intensive care has been registered over the last 25 years^{1,2}.

According to Rugolo³, to take care of a newborn with VLBW, besides guaranteeing the survival and minimizing the immediate morbidity, implies also in a favorable outcome. In this context, researchers started to question the quality of life of such surviving premature infants, once the increase of survival rates was not followed by the fall of newborn morbidity, what led to a big increase of survivors and a greater frequency of diseases in VLBW newborns⁴.

Therefore, the increase of survivors among VLBW newborns brings up the long-term neuropsychomotor development issue^{5,6}, especially during the integration period at school⁷, which is the first step towards the good quality of life in adulthood^{8,9}.

These findings lead to questions on the preparation the families have to receive, welcome and take care of a VLBW newborn. Would the families of such infants promote changes in their family dynamics during the admission period of their children and by the time of hospital discharge?

What are the effects caused by the arrival of a VLBW newborn with or without neuropsychomotor disturbance on the family structure? Would this impact be economical (changes in the family economic condition), social (quality and quantity of relationships with nonmembers of the family), familial (quality of relationship among members of the family), individual (the subjective idea experimented by any individual) or an association of all these factors? Are the families of these children prepared for these effects or would they need some kind of assistance? Would there be enough studies to describe and elucidate these issues?

Historical records

Medicine developed fast during the XIX and XX centuries. The acceleration of this evolution brought transformations in the whole context of the world health care. Regarding the assistance to children, one of the main chapters of this history is the establishment of Newborn Intensive Care Units (NICU).

In the past, the attention to newborns was limited to the well-intended actions to promote their survival by their parents, midwives and doctors¹⁰. Efforts aimed at providing an environment similar to the intra-uterine one and all energies were focused to three basic supporting needs: temperature, nutrition and protection against infections¹¹. The interest of industry enabled investigation, discovery and improvement of equipment, drugs and nutrients, contributing along with the scientific community for the establishment of NTICUs¹², and consequently the world started to experiment a constant

fall of neonatal mortality at all birth weight ranges^{1,13-17}.

World statistics

Follow-up studies indicate that VLBW children frequently present delayed neuropsychomotor developments^{1,18}. Brain paralysis has been one of the main consequences of prematurity during the last decade, affecting 10 to 15% of VLBW newborns². According to Volpe¹⁹, the VLBW newborn survival rate is good, ranging around 85%. However, from the survivors, five to 15% presented motor deficiency characterized as brain paralysis and, yet some other 25 to 50% presented at some extent, motor development onset, cognitive or behavioral, that will further result in learning difficulty. Kohlhauser et al.²⁰, studying 76 VLBW children found a development delay in one third of them at the age of 12 months. VLBW newborns, premature infants or those small for gestational age²¹, also presented a greater risk of long-term growth^{22,23}. Surveys in Spain have registered a brain paralysis rate of 13% among VLBW newborns²⁴.

In developing countries, there are few publications on short and medium term development of newborns, mainly the VLBW premature infants²⁵⁻²⁷. The majority of studies available present data showing important deficiencies in cognitive, motor and intellectual aspects of VLBW children when compared to those with sufficient weight²⁸. Brazilian researchers found neuropsychomotor development disturbance rates around 30%, but pointed to the difficulties of measuring them due to the high rate of giving up the medical ambulatory accompaniment (around 26.8%) caused by change of address, refusal to participate in the study or any other factors related to the social and cultural condition of the family, such as parents' difficulties of understanding the importance of the medical follow-up, as well as the lack of means, resources and time to bring their children to the medical ambulatory^{12,29,30}.

Objective

The objective of this study is to identify the effects of a VLBW newborn on family. It turns out to be an important instrument to clarify epidemiological issues of such population and to suggest the directions for health policy efforts in order to promote a better quality of life for these children, their families and society.

Methodology

The literature review was done in three steps. The first consisted of listing 2,889 articles from Medline, Lilacs, Scielo and Cochrane Library databases using the keyword "very low birth weight infant". From this total we selected 12 articles that matched the following inclusion criteria:

- Original article published in the period between 1966 and 2005;
- Cohort, case-control and cross-sectional studies³¹;
- Researches describing the characteristics of families of premature infants or families of VLBW newborns.

The second step consisted of combining the key words “premature infant” with each of the following key words and terms:

Key words: *psychosocial impact; family; stress; stressful events; life change events; adjustment disorders; depression; maternal.*

Terms: *family impact; social impact; extremely low birth weight; parental stress; parental attitudes; stress psychological.*

With this second procedure we obtained 191 articles and based on the same inclusion criteria linked above, 7 more articles were selected.

Finally, the third step was to review the references of the 19 (12 + 7) selected articles in first and second steps, in order to identify more articles that fulfilled the selection criteria. Thus, in this step we identified 3 additional articles. The final number of reviewed articles were then, 22 (12 + 7 + 3).

Duplicate articles were accounted for just once.

Discussion

We found a Kaplan & Mason³² study published in 1960 that described the birth of premature infant as an acute emotional crisis for the mother; however this assessment was restricted to mothers of premature infants. Later on, other studies showed some concern with the way mothers feel their premature infants³³, as well as parents and children suffering³⁴.

In the past, the first comparative studies identified analyzed mothers' reactions to pre-term infants with distinct methodologies (different cutoff points concerning birth weight and different times for data collection). Smith et al.³⁵ assessed 35 mothers of pre-terms (birth weight between 1,400 and 2,500 g) and 35 mothers of full-term infants (birth weight higher than 2,500 g) from a psychiatric point of view, and results showed no significant differences between groups of the first week postpartum. Nevertheless, Choi³⁶ in 1970 compared 20 mothers of pre-terms to 20 mothers of full-term infants, also in the first week postpartum and found significantly higher levels of depression and anxiety in the mothers of premature infants.

Parents' emotional response after the first week postpartum was initially studied by Jeffcoate et al.³⁷ who adopted unusual cutoff points for birth weights of newborns. They interviewed 17 families of pre-term infants (birth weight between 1,200 and 2,100 g) and 17 families of full-term infants (birth weight more than 2,500 g) between their children's 6th to 20th month of life. Although the study had shown that the pre-term birth of an infant produced emotional disturban-

ce, delayed or inadequate maternal attachment and undue problems in caring for the infant at home for both parents compared to a full-term birth, a number significantly higher of negative emotions in mothers were found when compared to fathers of the same group.

On the other hand, Trause & Kramer³⁸ in 1980 studied 38 parents of 19 low-risk pre-term infants and 28 parents of 14 healthy term infants, and found that parents of full-term infants experimented significantly more depression and emotional disturbances than parents of pre-term infants at 1 month postpartum. However, Scheiner et al.³⁹ in 1985, found no differences in the depression level of 17 mothers of full-terms and 17 mothers of pre-term infants when their children were 12 to 18 months old.

The main researchers' concern on the above mentioned was understanding the effects the birth of a pre-term infant on their parents and whether they were ready to receive this infant within the family environment. Nevertheless, studies until then produced inconsistent and inconclusive results according to Gennaro⁴⁰, who consequently, realized a longitudinal study. He examined 41 mothers of pre-terms infants (birth weight between 1,000 and 2,500 g) and 41 mothers of full-term infants (birth weight more than 2,500 g) in the immediate postpartum period (1 week) and over time (first 7 postpartum weeks) using the State-Trait Anxiety Inventory (STAI) and the Depression Adjective Check List (DACL). Results showed mothers of premature infants had heightened anxiety and depression in the first postpartum week than mothers of control group. However, this difference disappeared during the second to the seventh postpartum weeks and still mothers did not experience differences in anxiety and depression based on the level of illness of their infant. In another follow-up case, Lambrenos et al.⁴¹ investigated depression in 96 mothers: 30 of premature infants at risk for the development of cerebral palsy, 35 of premature infants considered not to be at risk for the developing cerebral palsy and 31 of healthy full-term infants. They found equally high levels of depression in all three groups of mothers throughout the first year of the children's lives.

We observed that researchers concentrated their efforts on assessing the prevalence of depression, anxiety and emotional disturbances of premature newborn parents, mainly the mothers, thus limiting the analysis of the contextual process of caring for an infant that, besides the individual aspects of parents, also included the financial, social and environmental aspects of the whole family. Additionally, the heterogeneity of the studies regarding children's birth weight ranges, as well as the instruments utilized, limit the analysis of results found.

We identified the survey by Rivers et al.⁴² as the first study that specifically assessed, the effects of a VLBW newborn on family and the first study considering other variables in addition to parents' individual aspects. Researchers interviewed the parents of

VLBW newborns with an average age of 4.3 (three to seven years) presenting neurological abnormalities (17 brain paralysis and five hydrocephaly), parents of VLBW children without neurological sequelae. The comparison of results indicated that the costs with medical care were frequently higher for the families of children with neurological abnormalities than for the families of normal children; VLBW children with neurological abnormalities demanded more hospitalization after birth than the ones in the group of normal children; and the families of children with neurological abnormalities registered significantly more stress due to medical doubts not clarified when compared with the control group (table I).

Brooten et al.⁴³ returned to focus parents' individual aspects and followed 47 mothers of VLBW newborns, using The Multiple Affect Adjective Checklist⁴⁴. They found that these mothers were significantly more anxious and depressed before their infants were discharged from hospital than when the infants were 9 months old. However, Lee et al.⁴⁵ using a scale for measuring the impact on family⁴⁶ when comparing information supplied by three groups of VLBW newborn parents newborns with development quotient (DQ) measured by Griffiths Mental Development Scales: 1) DQ less than 80; 2) DQ more than 80, and 3) normal birth weight by the time children presented an average age of 36.5 months (12 to 72 months), showed that the parents in 1) presented no worse impact than those in 3), however the ones in 2) presented a more positive impact (less score) than the two other groups.

Cronin et al.⁴⁷, using the same scale for measuring the impact on family⁴⁵, compared families of VLBW newborns with families of normal birth weight newborns (age between one and five years) and found significant differences in score for all items of impact (economical, social, familial and individual) showing that the families of VLBW newborns, mainly those with lower DQ measured by Gesell Development Scales⁴⁸ suffer a more negative impact (higher score) than the families in control group.

Collins et al.⁴⁹, using a structured questionnaire, compared two groups of Afro-American mothers (VLBW newborns and normal weight newborns) and identified that the mothers of VLBW newborns presented more stressful events and expressed unfavorable overall perception of their residential environments.

Subsequently, studies returned to focus parents' individual aspects, but keeping the reference of VLBW infants. Singer et al.⁵⁰ compared three groups of mothers with newborns in their first month of life (VLBW newborns with bronchopulmonar dysplasia (BPD); without BPD and normal birth weight) and found more psychological distress in mothers of the 2 first groups than in mothers of normal birth weight newborns.

In the same manner, Halpern et al.⁵¹ and Ong et al.⁵² found a higher prevalence of maternal stress in fami-

lies of VLBW newborns when compared to families of normal birth weight newborns, respectively at 9 months and at fourth year of their children's lives.

Taylor et al.⁵³ compared 3 groups of parents (families of newborns with birth weight less than 750 g; with birth weight between 750 to 1,499 g and with normal birth weight) and found that families of the first group presented more stress in relation to the control groups and newborns with greater neonatal risk presented more negative impacts on their families.

In the same year, Prindham et al.⁵⁴ studied mothers of newborns with BPD and without BPD and with normal birth weight, and found more symptoms of maternal depression in the families of VLBW newborns with BPD in comparison to the two other groups.

Recently, Kersting et al.⁵⁵, in a prospective longitudinal study compared the posttraumatic stress response of 50 mothers after the birth of a VLBW infant with 30 mothers of healthy term infants, at four measuring time points (1-3 days postpartum, 14 days postpartum and 6 e 14 months postpartum) using the Impact of Event Scale (IES-R), psychometric instruments (Structured Clinical Interview for DSM-IV, SCID-I), Back Depression Inventory (BDI), Montgomery Asberg Depression Scale (MADRS), State-Trait Anxiety Inventory (STAI) and Hamilton Anxiety Scale (HAM-A). At all four measuring time points (except 6 months postpartum), the mothers of VLBW infants recorded significantly higher values for traumatic experience and depressive symptoms and anxiety compared to the controls. In contrast to the mothers in the control group, the mothers of the VLBW infants showed no significant reduction in posttraumatic symptoms (IES-total), even 14 months after birth.

Padovani et al.⁵⁶, in a Brazilian study assessed 43 mothers of VLBW infants without a psychiatric background using STAI and BDI in two moments: during the hospitalization of infant and after the discharge. After infants' discharge, the number of mothers with clinical level of emotional symptoms decreased significantly in comparison to the first assessment. The anxiety-state level decreased significantly from the first to the second assessment. No differences in depression and dysphoria symptoms between two assessments were found.

We also found studies that assessed the impact on families, more specifically, on survival of newborns with extreme low birth weight (ELBW —birth weights less than 1,000 g). Stjernqvist⁵⁷ interviewed parents of ELBW, found more reactional crises in mothers than in fathers and stated that parents of these newborns reported more stress during the first year of child's life, what causes more tension in marital relationship when compared to the control group comprising fathers of newborns with normal weight; however the same study identified no relation between permanent neurological disturbances in childhood and strong reactions by the members of the family (table II).

Nevertheless, Saigal et al.⁵⁸ compared families of ELBW newborns with families of pre-terms infants

Table I
Articles indexed for Medline, Lilacs, Scielo and Cochrane Library databases that analyze the VLBW* newborns impact on their families

Author/Country	Study design	Casuistic	Results [§]	
			Economic and social dimensions	Familial and personal strain dimensions
Rivers et al. (1987) ⁴² USA	Cohort	(22 parents of VLBW* newborns neurologically abnormal / 15 parents of VLBW newborns neurologically normal) Average age 4.3 years (range 3-7 years)	Cost of later medical care was a problem (41%/13%) ^μ	Stress due to medical terms not explained (32%/7%) ^μ Rehospitalizations (81,8%/40%) ^μ
Brooten et al. (1988) ⁴³ USA	Cohort	(47 mothers of VLBW newborns before infants' discharge / infants were 9 months old)		Anxiety (6.83/4.27)# p < .05 Depression (11.27/9.14)# p < .01
Lee et al. (1991) ⁴⁵ Canada	Cohort	(33 parents of VLBW newborns DQ** < 80 / 139 parents of VLBW newborns DQ > 80) Average age 36.5 months (range 12-71 months)	Score financial (9,1/7,9/8,9) ^{§§} Score Social/Personal (13,4/11,4/13,1) ^{§§} Impact on family - Total scores (50,4/45,1/50,6) ^{§§} - p < .05	Score family (19,2/17,1/19,6) [§] Score Mastery (8,8/8,9/9,0) ^{§§}
Cronin et al. (1995) ⁴⁷ Canada	Matched Case-Control	(96 parents of VLBW newborns / 96 parents of full term infants) Age (range 1-5 years)	Impact on family - Total scores (54,5/46,5)§§ - p < .0001	
Collins et al. (1998) ⁴⁹ USA	Cohort	(28 mothers of VLBW newborns / 52 mothers of full term infants) Age (range 2-4 years)	Unfavorable overall perception of residential environment (OR [†] = 3,2) p < .05	Stressful life events during pregnancy (OR = 3,1) - p < .05
Singer et al. (1999) ⁵⁰ USA	Prospective Cohort	(206 mothers of VLBW newborns with or without BPD*** / 123 mothers of full term infants) Follow-up - 3 years		Psychological distress (13%/1%) ^μ p = .003
Halpern et al. (2001) ⁵¹ USA	Cohort	(23 parents of VLBW newborns / 33 parents of full term infants) Age - 9 months		Maternal stress (VLBW > full term) ^μ p < .05
Ong et al. (2001) ⁵² Malaysia	Cohort	(116 mothers of VLBW newborns / 96 mothers of full term infants) Age - 4 years		Maternal stress (39,7%/20,8%) ^μ p = .003
Taylor et al. (2001) ⁵³ USA	Cohort	[59 parents newborns (< 750 g) / 53 parents newborns (> 750 g e < 1,500 g) / 44 parents of full term infants] Average age 7 years		Familial stress (61%/51%/32%) ^μ p < .05
Pridham et al. (2001) ⁵⁴ USA	Cohort	(31 mothers of VLBW newborns with BPD / 23 mothers of VLBW newborns without BPD / 49 mothers of full term infants) Follow-up - 1 year		Maternal depression (VLBW with BPD > controls groups) ^μ
Kersting et al. (2004) ⁵⁵ Germany	Cohort	(50 mothers of VLBW newborns / 30 mothers of healthy term infants) Follow-up - 14 months		Traumatic symptoms (VLBW > healthy term) ^μ p < .05
Padovani et al. (2004) ⁵⁶ Brazil	Cohort	(43 mothers of VLBW infants during hospitalization / after hospitalization)		Anxiety-state level (35%/12%) ^μ p < = .006 Emotional symptoms (44%/26%) - p < = .008

* VLBW = Very low birth weight (< 1,500 gm).

** DQ = Developmental quotients.

***BPD = Bronchopulmonary dysplasia.

§The results relating to the impact on family scale revisited⁴⁶. Economic and social dimensions / Familiar and personal strain dimensions.

#The results relating to the multiple affect adjective checklist⁴⁴, where the higher score indicates more effect.

μPrevalence.

†OR = Odds Ratio.

§§Score relating to the impact on family scale revisited⁴⁶, where the higher score indicates more negative family impact.

Table II
Articles indexed for Medline, Lilacs, Scielo and Cochrane Library databases that analyze the ELBW* newborns impact on their families

Author/Country	Study design	Casuistic	Results [§]	
			Economic and social dimensions	Familial and personal strain dimensions
Stjernqvist (1992) ^{§7} Sweden	Prospective	(20 parents of ELBW* newborns / 20 parents of full term infants) Follow-up – 1 year		Maternal physical symptoms (75%/35%) [¶] - p < .003 Marital disturbances (58%/21%) [¶] - p < .05
Saigal et al. (2000) ^{§8} Canada	Cohort	[145 parents of ELBW newborns (26% with neurological sequelae) / 123 parents of full term infants (2% with neurological sequelae)] Age (range, 12-16 years)	Friends and relatives are more comprehensive and helpful (53.5%/25.2%) [¶] p < .001 Unable to take a job (7.6%/0.8%) [¶] - p < 0.05	Own emotional health affected (21%/9.8%) [¶] - p < .05 Marriage relationships – stress/strains (14%/5.7%) [¶] - p < .005 Negative effects on other children (21.6%/7.1%) [¶] - p < .005 Less parental attention (14.4%/3.6%) [¶] - p < .05 Decision on not having other children (58.3%/6.3%) [¶] - p < 001 Improved their feelings about themselves (56.3%/42.5%) [¶] p < .05
Saigal et al. (2000) ^{§8} Canada	Cohort	(110 parents of ELBW newborns without impairments / 120 parents of full term infants without impairments) Age (range, 12-16 years)	Positive interactions with friends (51%/25%) [¶] - p < .001	Marriage relationships - positive effects (21%/7%) [¶] - p < .001 Marriage relationships - negative effects (14%/6%) [¶] - p < .05 Positive interactions with family (37%/13%) [¶] - p < .001 Decision on not having other children (54%/39%) [¶] - p < .05
Saigal et al. (2000) ^{§8} Canada	Cohort	(35 parents of ELBW newborns with impairments / 110 parents of ELBW newborns without impairments) Age (range, 12-16 years)	Difficulties to take a job (17%/5%) [¶] - p < .05 Limited time for person needs (34%/16%) [¶] p < .05	Improved their feelings about themselves (74%/51%) [¶] - p < .05 Emotional health affected (34%/17%) [¶] - p < .05 Negative effects on other children (45%/14%) [¶] - p < .001
Tommiska et al. (2002) ^{§9} Finland	Sectional	(56 mothers of ELBW newborns / 66 mothers of full term infants) Age - 2 years	No significant differences were found	
Tommiska et al. (2002) ^{§9} Finland	Sectional	(23 fathers of ELBW newborns / 38 fathers of full term infants) Age - 2 years	No significant differences were found	
Tommiska et al. (2002) ^{§9} Finland	Sectional	[All mothers (122) / All fathers (61)] Age - 2 years	Distress regarding social isolation (1,94/2,14) [#] p = .04	Distress regarding role restriction (3,37/3,04) [#] - p = .0008 Distress regarding incompetence (2,2/1,95) [#] - p = .0011 Distress regarding relationship problems (2,39/2,1) [#] p < .018

* ELBW = Extremely low birth weight (< 1,000 gm).

[§]The results relating to the impact on family scale revisited[¶]: Economic and social dimensions / Familial and personal strain dimensions.

[¶]Prevalence.

[#]Score relating to the SPSQ – Swedish Parenthood Stress Questionnaire⁴⁰, where the higher score indicates more stress.

from the same social-demographic condition and found that the positive effects as much as the negative ones on marital relationship were more frequent in the families of ELBW newborns. Additionally, neurologi-

cal sequelae in children with ELBW promote difficulties in the familial context, in spite of causing a refinement of parents' feelings about themselves, concluding that parents of ELBW newborns adjusted

reasonably well their works and family responsibilities and that, although some negative effects had been identified, there was still considerable preparation for the active treatment of their children.

Subsequently, Tommiska et al.⁵⁹, using the Swedish Parenthood Stress Questionnaire (SPSQ) found no significant differences when comparing mothers of ELBW newborns to mothers of full children, or when comparing fathers of ELBW newborns to fathers of control group. Nevertheless, differences were found when all mothers were compared to all fathers. Mothers indicated significantly more distresses regarding the functional restrictive part and their children's incapacity in addition to the marital relationship problems; however fathers indicated significant more distresses regarding the social isolation this situation imposes⁶⁰.

Conclusion

The data analysis leads to the conclusion that the families of VLBW newborns suffer potential effects on their daily dynamics, which relates to the clinical seriousness, age and neuropsychomotor development of such children. It seems that the mother is the most affected member of the family due to the situation imposed to the family, and who more frequently needs psychosocial support, mainly during the first week of life and before the discharge. The lines of research lead us to understand that the families of VLBW newborns with development disturbances suffer negative impact, complicating the handling of such situations. On the other hand, the families of VLBW newborns with or without neuropsychomotor development disturbances suffer a positive impact in comparison to newborns with normal birth weights. Nevertheless, the number of existing studies is still insufficient to clarify whether the effects, considering all their aspects, are predominantly positives or negatives, once the analyzed aspects presented differences among the studies showing inconsistencies when comparing their results. Yet, the studies selected were preponderantly performed in developed countries, what might limit the validity of the results when applied to developing countries. Therefore, we concluded that new studies should be performed in order to enhance the knowledge on the effects suffered by the families of VLBW newborns to subsidize proposals of health programs and policies.

Concomitantly, we concluded that follow-up programs should incorporate a psychological evaluation and support services to the VLBW newborn mothers, immediately in the postpartum period, as well as to provide multi-disciplinary follow-up support to these newborns and their families. Such programs, already a routine in other countries, are not emphasized in developing countries health policies, what hampers the family comprehension of attendance frequency to outpatient clinics. In line with this, some new perspectives should be created in order to give support to the

families of VLBW newborns, giving them conditions to face the challenge in order to prevent the negative effects aiming at a better quality of life.

References

1. Hack M, Wright LL, Shankaran S et al. Very-low-birth-weight outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Network, November 1989 to October 1990. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172 (2 Pt 1): 457-64.
2. Aylward GP, Pfeiffer SI, Wright A, Verhulst SJ. Outcome studies of low birth weight infants published in the last decade: a meta-analysis. *J Pediatr* 1989; 115 (4): 515-20.
3. Rugolo LM. Follow-up do recém-nascido de muito baixo peso. In: Costa HP, Marba ST, editors. O recém-nascido de muito baixo peso. Série Atualizações Pediátricas da Sociedade de Pediatria de São Paulo. São Paulo: Atheneu; 2003. pp. 469-77.
4. Robertson CM, Hrynchyshyn GJ, Etches PC, Pain KS. Population-based study of the incidence, complexity, and severity of neurologic disability among survivors weighing 500 through 1,250 grams at birth: a comparison of two birth cohorts. *Pediatrics* 1992; 90 (5): 750-5.
5. Bennett FC, Robinson NM, Sells CJ. Growth and development of infants weighing less than 800 grams at birth. *Pediatrics* 1983; 71 (3): 319-23.
6. Cooke RW. Factors affecting survival and outcome at 3 years in extremely pre-term infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1994; 71 (1): F28-31.
7. Stjernqvist K, Svenningsen NW. Extremely low-birth-weight infants less than 901 g: development and behavior after 4 years of life. *Acta Paediatr* 1995; 84 (5): 500-6.
8. World Health Organization. International classification of impairments, disabilities and handicaps—a manual of classification relating to the consequences of disease. Geneva: WHO; 1980.
9. Bjerager M, Steensberg J, Greisen G. Quality of life among young adults born with very low birth weights. *Acta Paediatr* 1995; 84 (12): 1339-43.
10. Fernández-Carrocera LA, Pañuela-Olaya MA. Crecimiento y neurodesarrollo del recién nacido de alto riesgo. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1999; 56 (11): 623-35.
11. O'Donnell J. The development of a climate for caring: a historical review of premature care in the United States from 1900 to 1979. *Neonatal Netw* 1990; 8(6):7-17.
12. Meio MD. Como estão sobrevivendo os pequenos prematuros? Um olhar sobre a população do Instituto Fernandes Figueira [dissertation]. Rio de Janeiro: Instituto de Medicina Social da Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 1999.
13. McCormick MC, Shapiro S, Starfield BH. The regionalization of perinatal services. Summary of the evaluation of a national demonstration program. *JAMA* 1985; 253 (6): 799-804.
14. Hack M, Fanaroff AA. How small is too small? Considerations in evaluating the outcome of the tiny infant. *Clin Perinatol* 1988; 15 (4): 773-88.
15. Hack M, Horbar JD, Malloy MH, Tyson JE, Wright E, Wright L. Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Network. *Pediatrics* 1991; 87 (5): 587-97.
16. Guyer B, Strobino DM, Ventura SJ, Singh GK. Annual summary of vital statistics-1994. *Pediatrics* 1995; 96 (6): 1029-39.
17. Fanaroff AA, Wright LL, Stevenson DK et al. Very-low-birth-weight outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, May 1991 through December 1992. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173 (5): 1423-31.
18. Piccurch RE, Leonard CH, Cooper BA. Infants with birth weight 1,000-1,499 grams born in three time periods: has outcome changed over time? *Clin Pediatr (Phila)*. 1998; 37 (9): 537-45.
19. Volpe JJ. Brain injury in the premature infant—from pathogenesis to prevention. *Brain Dev* 1997; 19 (8): 519-34.

20. Kohlhauser C, Fuiko R, Panagl A, et al. Outcome of very-low-birth-weight infants at 1 and 2 years of age. The importance of early identification of neuro developmental deficits. *Clin Pediatr* (Phila). 2000; 39 (8): 441-9.
21. Sung IK, Vohr B, Oh W. Growth and neuro developmental outcome of very low birth weight infants with intrauterine growth retardation: comparison with control subjects matched by birth weight and gestational age. *J Pediatr* 1993; 123 (4): 618-24.
22. Ericson A, Kallen B. Very low birth weights boys at the age of 19. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1998; 78 (3): F171-4.
23. Riegel K, Ohrt B, Wolke D, Osterlund K. Die Entwicklung gefährdeter geborener Kinder bis zum fünften Lebensjahr [The development of at-risk children until the fifth year of life. The Arvo Ylppo longitudinal study in South Bavaria and South Finland]. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag; 1995.
24. Pallas Alonso CR, De la Cruz BJ, Medina Lopez MC et al. [Outcome at 3 years of age in a low birth weight cohort]. *An Esp Pediatr* 1998; 48 (2): 152-8.
25. Meio MD, Melo RR, Morsch DS, Porto MA. Utilização do método de Gesell na avaliação do desenvolvimento de crianças que necessitam de terapia intensiva neonatal. *J Pediatr* (Rio J). 1992; 68: 18-20.
26. Gherpelli JL, Ferreira H, Costa HP. Neurologic follow-up of small-for-gestational age newborn infants. A study of risk factors related to prognosis at one year of age. *Arq Neuropsiquiatr* 1993; 51 (1): 50-8.
27. Mello RR. Valores de predição da avaliação neurológica neonatal pelo método de Dubowitz e da ultra-sonografia cerebral em relação ao desenvolvimento de prematuros de muito baixo peso [dissertation]. Rio de Janeiro: Instituto Fernandes Figueira/Fundação Oswaldo Cruz; 1996.
28. Fisberg M, Anti SM, Yamashiro SN. Baixo peso ao nascimento II: desenvolvimento neuropsicomotor de crianças PIG. *Pediatr Mod* 1997; 33 (3): 124-7.
29. Perosa GB. Avaliação do desenvolvimento psicológico: análise de um ambulatório especializado em um Hospital de Clínicas. *Rev Paul Pediatr* 1996; 14 (2): 66-72.
30. Magalhães LC, Barbosa VM, Paixão ML, Figueredo EM, Gontijo AP. Acompanhamento ambulatorial do desenvolvimento de recém-nascidos de alto risco: características da população e incidência de seqüelas funcionais. *Rev Paul Pediatr* 1998; 16 (4): 191-6.
31. Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, Hearst N, Newman TB. Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica. 2.^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2003.
32. Kaplan DM, Mason EA. Maternal reactions to premature birth viewed as an acute emotional disorder. *Am J Orthopsychiatry* 1960; 30: 539-52.
33. Elmer E. Children in jeopardy. A study of abused minors and their families. Pittsburgh (PA): University of Pittsburgh Press; 1967.
34. Bishop FI. Children at risk. *Med J Aust* 1971; 1 (12): 623-8.
35. Smith N, Schwartz JR, Mandell W, Silberstein RM, Dalack JD, Sacks S. Mothers' psychological reactions to premature and full-size newborns. *Arch Gen Psychiatry* 1969; 21 (2): 177-81.
36. Choi MW. A comparison of maternal psychological reactions to premature and full-size newborns. *Matern Child Nurs J* 1973; 2 (1): 1-13.
37. Jeffcoate JA, Humphrey ME, Lloyd JK. Role perception and response to stress in fathers and mothers following pre-term delivery. *Soc Sci Med* 1979; 13A (2): 139-45.
38. Trause MA, Kramer LI. The effects of premature birth on parents and their relationship. *Dev Med Child Neurol* 1983; 25 (4): 459-65.
39. Scheiner AP, Sexton ME, Rockwood J, Sullivan D, Davis H. The vulnerable child syndrome: fact and theory. *J Dev Behav Pediatr* 1985; 6 (5): 298-301.
40. Gennaro S. Postpartal anxiety and depression in mothers of term and preterm infants. *Nurs Res* 1988; 37 (2): 82-5.
41. Lambrenos K, Weindling AM, Calam R, Cox AD. The effect of a child's disability on mother's mental health. *Arch Dis Child* 1996; 74 (2): 115-20.
42. Rivers A, Caron B, Hack M. Experience of families with very low birth weight children with neurologic sequelae. *Clin Pediatr* (Phila). 1987; 26 (5): 223-30.
43. Brooten D, Gennaro S, Brown LP et al. Anxiety, depression, and hostility in mothers of preterm infants. *Nurs Res* 1988; 37 (4): 213-6.
44. Zuckerman M, Lubin B. Manual for the MAACL-R, The Multiple Affect Adjective Check List Revised. San Diego (CA): Educational and Industrial Testing Service; 1985.
45. Lee SK, Penner PL, Cox M. Impact of very low birth weight infants on the family and its relationship to parental attitudes. *Pediatrics* 1991; 88 (1): 105-9.
46. Stein RE, Riessman CK. The development of an impact-on-family scale: preliminary findings. *Med Care* 1980; 18 (4): 465-72.
47. Cronin CM, Shapiro CR, Casiro OG, Cheang MS. The impact of very low-birth-weight infants on the family is long lasting. A matched control study. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1995; 149 (2): 151-8.
48. Knobloch H, Pasamanick B. Gesell and Amatruda's developmental diagnosis: the evaluation and management of normal and abnormal neuropsychologic development in infancy and early childhood. 3rd ed. New York: Harper & Row Publishers; 1974.
49. Collins JW Jr, David RJ, Symons R, Handler A, Wall S, Andes S. African-American mothers' perception of their residential environment, stressful life events, and very low birth weights. *Epidemiology* 1998; 9(3):286-9.
50. Singer LT, Salvator A, Guo S, Collin M, Lilien L, Baley J. Maternal psychological distress and parenting stress after the birth of a very low-birth-weight infant. *JAMA* 1999; 281 (9): 799-805.
51. Halpern LF, Brand KL, Malone AF. Parenting stress in mothers of very-low-birth-weight (VLBW) and full-term infants: a function of infant behavioral characteristics and child-rearing attitudes. *J Pediatr Psychol* 2001; 26 (2): 93-104.
52. Ong LC, Chandran V, Boo NY. Comparison of parenting stress between Malaysian mothers of four-year-old very low birth weight and normal birth weight children. *Acta Paediatr* 2001; 90 (12): 1464-9.
53. Taylor HG, Klein N, Minich NM, Hack M. Long-term family outcomes for children with very low birth weights. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2001; 155 (2): 155-61.
54. Pridham K, Lin CY, Brown R. Mothers' evaluation of their care giving for premature and full-term infants through the first year: contributing factors. *Res Nurs Health* 2001; 24 (3): 157-69.
55. Kersting A, Dorsch M, Wesselmann U, et al. Maternal post-traumatic stress response after the birth of a very low-birth-weight infant. *J Psychosom Res* 2004; 57 (5): 473-6.
56. Padovani FH, Linhares MB, Carvalho AE, Duarte G, Martinez FE. [Anxiety and depression symptoms assessment in pre-term neonates' mothers during and after hospitalization in neonatal intensive care unit]. *Rev Bras Psiquiatr* 2004; 26 (4): 251-4.
57. Stjernqvist KM. Extremely low birth weight infants less than 901 g. Impact on the family during the first year. *Scand J Soc Med* 1992; 20 (4): 226-33.
58. Saigal S, Burrows E, Stoskopf BL, Rosenbaum PL, Streiner D. Impact of extreme prematurity on families of adolescent children. *J Pediatr* 2000; 137 (5): 701-6.
59. Tommiska V, Ostberg M, Fellman V. Parental stress in families of 2 year old extremely low birth weights infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002; 86 (3): F161-4.
60. Ostberg M, Hagekull B. A structural modeling approach to the understanding of parenting stress. *J Clin Child Psychol* 2000; 29 (4): 615-25.

Revisión

Modelos animales para el estudio de la respuesta inflamatoria sistémica y de nutrición parenteral

J. M. Morán Penco

Profesor de Cirugía. Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina. U.Ex. Director del Servicio de Animalario. Universidad de Extremadura. España.

Abstract

El Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS) parece desencadenarse por la activación de un tipo de receptores llamados Toll-Like, propios de las células de respuesta inflamatoria y que, a través de señales citosólicas específicas, producen una cascada de reacciones que activan las Citocinas, Factores de Crecimiento y otros mediadores inflamatorios. En este trabajo, repasamos y discutimos varias clasificaciones de Modelos Animales para el estudio del SRIS y proponemos que estos modelos se dividan según los objetivos concretos a estudiar; que podrían ser los siguientes:

1º Para el estudio de los genes reguladores de los receptores Innatos y Adaptativos, de la respuesta inmuno-inflamatoria.

2º Para el estudio de los receptores de señalización (Citocinas y Factores de Crecimiento).

3º Para el estudio de la respuesta frente a los señalizadores.

4º Para el estudio de tratamientos mediante bloqueo anti-inflamatorio específico (ILs, TNF y otros).

5º Modelos específicos de Sepsis.

6º Otros Modelos Inductores de SRIS.

7º Para el estudio de Modelos Terapéuticos diversos:
–Tratamientos Anti-Inflamatorios. –Tratamientos Anticoagulantes: Inhibición de la Coagulación en ensayos Humanos-Fase II, con anticoagulantes: Antitrombina III, PCA y TFPI. –Tratamientos Antibióticos. –Tratamientos con Reposición de Volúmenes. –Tratamientos Quirúrgicos.

En lo que respecta al apartado de Modelos animales para el estudio de la Nutrición Parenteral, podríamos hacer la siguiente clasificación y resumen de lo tratado:

Correspondencia: José M. Morán Penco
Dpto. Cirugía
Facultad Medicina Universidad de Extremadura
Av. Elvas, s/n
06071 Badajoz
E-mail: jmmoran@unex.es

Recibido: 2-XI-2006.
Aceptado: 30-I-2007.

ANIMAL MODELS FOR THE STUDY OF SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE AND PARENTERAL NUTRITION

Abstract

The systemic inflammatory response syndrome (SRIS) seems to be due to the activation of the toll-like receptors, specific of the inflammatory response cells, through concrete cytosolic signals which lead to a cascade of reactions acting cytokines, growing factors and others inflammatory mediators. This kind of work reveals and discusses several classifications of animals models to study the SRIS, and propose to divide these models according to concrete goals, which can be the following ones:

1º To study innate and adaptative receptors of regulatory gens in the SRIS.

2º To study signals receptors (cytokines and growing factors).

3º To study the answer to signals.

4º To study treatments through specifics antinflammatory blockage.

5º Specific models of sepsis.

6º Others inducing models of SRIS.

7º Others therapeutical models. –Antinflammatories. –Anticoagulants: Coagulations inhibition in human assays. –Phase II Anticoagulants: Antitrombine III, PCA y TFPI. –Antibiotics. –Replacing Volume Treatments. –Surgical Treatments.

As to the animals models to study Parenteral Nutrition, we could make the next classifications and sum it up:

1. Animal models to study the parenteral via of administration.

2. Models to study viability, absorption and local tolerance of the administration via.

3. Study models for complications.

1. Modelos Animales para el estudio de la Vía Parenteral de Administración.

2. Modelos para el estudio de la viabilidad, absorción y tolerancia locales en la vía de administración.

3. Modelos para el estudio de las Complicaciones.

4. Modelos animales para el estudio de la farmacodinamia, metabolización e investigación de la tolerancia de nuevas moléculas o substratos.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:146-59)

Palabras clave: *Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.*

Introducción

Desde tiempos prehistóricos se han usado diversos tipos de animales para comprobar la toxicidad de múltiples alimentos, venenos naturales y extractos. Desde luego, en la medicina egipcia (la mejor y más avanzada de su época), posteriormente en la del medio oriente (asiría, persa, etc) y en la Árabe y Judía españolas, se efectuaban ensayos de toxicidad farmacológica y otros ensayos quirúrgicos con diversos tipos de animales. En Europa, se usa el ratón por primera vez en el siglo XVI y, en el siglo XVIII, se usan animales para observar la inyección de productos alimenticios. E. Jenner, en 1798, logra la primera vacuna de la viruela, tras experimentar en varios animales. Especialmente importantes fueron los avances logrados en fisiología, a lo largo del siglo XIX, con el uso del animal de experimentación por el gran fisiólogo francés Cl. Bernard y de otros fisiólogos Franceses, Rusos, Ingleses, Alemanes o de otras nacionalidades. L. Pasteur, en 1885, logra la vacuna antirábica y luego se logran las antidiftéricas, las de la polio, etc. Todas ellas por experimentación animal^{1,3}. Finalmente, merecen reseñarse la introducción de los experimentos en primates No-humanos a principios del siglo XX^{1,4} y los enormes avances logrados con la cirugía experimental y la experimentación con animales transgénicos, durante los siglos XX y el actual^{1,5,6}. No cabe duda que, con el uso de animales transgénicos, hemos aprendido mucho acerca de la genética, de los mediadores y de la fisiopatología de la respuesta inflamatoria, así como de la cicatrización de las lesiones titulares^{7,8}.

En lo referente a la Nutrición Artificial (NA), esta fue precisamente iniciada por Christopher Wren, en el siglo XVIII, en un modelo experimental con perros, tratando de administrarles vino en la vena, mediante una caña de ave. Posteriormente, a finales de los años 60', Dudrick y cols., desarrollaron también en perros el método de NP prolongada, a través de un catéter central y su primera aplicación clínica⁹. La NA, la podemos dividir en: Nutrición Enteral (NE), que a su vez podría ser subdividida en tramos anatómicos de administración digestiva (gástrica, duodenal, yeyunal) o por tipos de preparados (elementales, semielementales...) y en Nutrición Parenteral (NP), que a su vez podríamos subdividirla según la vía de infusión (Vía venosa Cen-

4. Animal models to study pharmacodynamic, metabolism and to investigate the tolerance of new molecules or substrates.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:146-59)

Key words: *Systemic inflammatory response syndrome.*

tral, Periférica o Peritoneal), por la carga de substratos administrados (Parcial o Completa) o por el tiempo de administración (corto o a largo plazo). Pues bien, en el caso de la NA y, mas concretamente de NP, además de requerirse modelos animales para el estudio de la vía de administración, como en todos los estudios nutricionales, los objetivos pueden ser muy diversos: estudios para conocer las necesidades cualitativas y cuantitativas de los substratos, sus concentraciones, variedades concretas de los mismos, formas y ritmos de administración, estudios de farmacodinamia, farmacogenética, fisiopatología y de tolerancia, o de todas las posibles complicaciones tras su administración, etc.^{10,11}.

Objetivos

Intentaremos demostrar la necesidad del uso del animal de experimentación para el estudio y tratamiento del Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS), así como ofrecer unas guías prácticas de los modelos animales más útiles.

Respecto de los Modelos Animales para el estudio de la Nutrición Parenteral (NP), pretendemos indicar cuales animales, útiles o arneses y condiciones de estabulación que puedan ser más adecuadas y, más aún, concretar los diseños experimentales así como los modelos idóneos para los diferentes aspectos de la investigación en NP (vías, metabolismo de los substratos, interferencias, nutrigenómica, complicaciones etc.).

Material y metodos

Hemos revisado la literatura de los últimos veinticinco años, tanto de tratados actuales como de artículos especializados sobre el uso de los animales de experimentación, del diseño experimental y de los modelos animales para los estudios del Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica y para los estudios en Nutrición Artificial y Parenteral. También hemos estudiado la legislación actual, Internacional y española, sobre el animal de experimentación¹²⁻¹³.

Finalmente, hemos revisado nuestra experiencia en la experimentación animal para estos estudios, iniciada en 1981.

Resultados y discusión

Modelos experimentales para el estudio de la respuesta inflamatoria sistémica

Desde el punto de vista histórico, para llegar al actual concepto del SRIS, podríamos destacar las siguientes etapas¹⁴:

- El primer concepto que asociar al SRIS, sería el de “Colapso periférico” (post-febril, hemorrágico, cardíaco...), establecido por Frank en 1896 y mas desarrollado por Starling en 1905. Este fue el primer punto de vista termodinámico o de transferencia térmica entre sistemas y/u órganos; desde la piel y músculos hacia los órganos centrales.
- El siguiente paso fue el de Shock, con sus grados y tipos de Shock (infeccioso, cardiogénico, hipovolémico, post-traumático, gran quemado, neurogénico...). Esta teoría fue desarrollada entre los años 1920 a 1960.
- Siguió el de Fallo orgánico, mejor expresado en el de Fallo Multiorgánico o de múltiples órganos. Establecida en la década de los 70’
- Finalmente, en estos últimos años se ha recuperado de nuevo el concepto termodinámico. Desde entonces, se acepta definitivamente la fisiopatología inflamatoria como un proceso que puede finalizar en un Fallo Multiorgánico^{15,16}.

Las posibles etiologías del Fallo Multiorgánico y del Shock, podríamos dividir las en¹⁷:

- Clínicas: Pancreatitis, Gran quemadura, Infección por Gran-negativos (endotoxinas) o por algunos Gran-positivos (exotoxinas), Virus/hongos, Politraumatismo o Traumatismo grave (especialmente con contusión pulmonar), Isquemia/Reperusión (en cirugía vascular o de otro origen... *“siempre fue mas grave la isquemia que la hipoxia relativa de un órgano”*).
- Experimentales: Sépsis Peritoneal inducida (LPS, inyección IP de gérmenes, ADN viral...), Isquemia/Reperusión quirúrgica-experimental, Administración de endotoxinas (LPS, PAMPs), Administración de Citocinas, Síndrome Compartimental, Ventilación Artificial Anómala (Vt altos...), otros, incluyendo los inmunológicos y los genéticamente determinados (Nock-out, Transgénicos)...

Clínicamente, el SRIS se diagnostica cuando el paciente tiene más de uno de los datos clínicos referidos a continuación y en el caso del adulto. Estos mismos signos (de respuesta inflamatoria), pueden también observarse en ausencia de causas infecciosas:

- Temperatura corporal $> 38^{\circ}\text{C}$ or $< 36^{\circ}\text{C}$.
- Frecuencia Cardíaca $> 90/\text{min}$.

- Hiperventilación, evidenciada por una frecuencia respiratoria $> 20/\text{min}$ o una PaCO_2 de < 32 mmHg.
- Leucocitosis de > 12.000 células/ μl o < 4.000 células/ μl .

Pues bien, una vez visto lo anterior, podríamos hacernos las siguientes preguntas: ¿Hay etiopatogenias comunes a esos procesos?, ¿hay mecanismos fisiopatológicos compartidos?, ¿existe una respuesta inflamatoria sistémica que conecte a todos esos fenómenos clínicos y fisiopatológicos? La respuesta es SÍ: En muchos de estos procesos, no en todos, existen unos mecanismos moleculares e inmunológicos que, ante las diversas etiopatogenias, configuran una respuesta de tipo inflamatorio, y que pueden llevar a un fallo multi-orgánico.

Y, ¿cuales serían esos mecanismos bioquímicos e inmunológicos primarios que, ante las diversas etiopatogenias, configuran una respuesta tipo inflamatorio, y que pueden llevar a un fallo orgánico? Pues nuestra respuesta podría ser la siguiente:

- 1º: La activación de la Familia de Receptores de Membrana (especialmente los de tipo Toll-Like receptors), al inicio del proceso patogénico, y la producción celular de los Factores de Señalamiento, son los eventos moleculares comunes. Independientemente de la etiopatogenia o del órgano inicialmente afecto.
- 2º: Las alteraciones de la Microcirculación (Capilar/Intersticio), constituyen el proceso final que pueden llevar al Fallo multiorgánico y a la muerte del paciente.

Recordemos que el sistema Inmunológico o de respuesta inmune se distribuye, anatómicamente, en órganos encapsulados (Timo, Bazo, Médula ósea, Ganglios linfáticos) y en áreas difusas (Anillo de Waldeyer, Placas de Peyer, Lámina propia intestinal, Tejidos linfoides pulmonar y urogenital, Hígado etc.), encargados a su vez de originar dos tipos de respuesta:

1. La Innata, dividida a su vez en:
 - Inmediata (segundos), originada por Macrófagos y Mastocitos, a través de la activación del Complemento y la Lisozima.
 - Inducida (Horas y días), originada por los Linfocitos NK, Eosinófilos, Basófilos, Endoteliecitos y neutrófilos, a través de mediadores como Citocinas, Interferones, Proteínas de fase aguda y otros mediadores inflamatorios. En estas dos, intervienen las barreras anatómicas locales, de las áreas infectadas o agredidas, además de la Sangre, Hígado y Médula Ósea.
2. La Adquirida o Adaptativa (en semanas): Aquí intervienen también la Sangre, el Bazo, el Timo, Médula Ósea y Linfa, a través de los Linfocitos T y B y las Células Dendríticas que originan Anticuerpos, Citocinas, Citolisinas y Moléculas HLA.

Pues bien, en 1991 Spaetzle y cols. descubrieron que en la Mosca del Vinagre el mecanismo de activación de sus defensas inmediatas era a través de la activación de unos Receptores característicos que fueron llamados Toll-Like (TLR). Posteriormente, en 1997, Medzhitov y cols.¹⁸ clonaron en el ser humano un receptor homólogo, llamado también Toll-Like y que, posteriormente se ha subdividido en subtipos TLR-2, 4, 5, 9. Todos ellos reconocerían a subproductos bacterianos, llamados PAMPs, fundamentalmente los Lipopolisacáridos (LPS), más propios de la bacterias Gram-. Estos activadores externos (LPS para los Gram- y, según parece actualmente, otros activadores endógenos¹⁹: Ac. Hialurónico, Fibronectinas, Surfactantes, Complejos IgG, Ac. Láurico y muchos otros), activarían a los diferentes subtipos de TLR de los Macrófagos, Mastocitos y sus derivados. A través de señales citosólicas (IRAK, NF κ B etc.), originarían en el núcleo la producción de una cascada de mediadores, llamados Citocinas, Factores de Crecimiento (GF) y otros productos Pro-Inflamatorios (Metabolitos del O₂, Metabolitos del Ac. Araquidónico, Enzimas hidrolíticas, ON etc.), desencadenando la respuesta sistémica en la Sepsis o el SRIS. Esto explica: 1) Como puede iniciarse el SIRS, en ausencia de PAMPs/LPS (SRIS estéril). 2) Como los TLR unen la respuesta inmunitaria innata y adaptada frente a virus, tumores, transplantes...

El esquema más actualizado sería, en mi opinión el representado en la figura 1, y propuesto por Brunn & Platt en el 2006²⁰. En este esquema, la teoría anterior esta señalada en gris.

Por otra parte y para nuestros objetivos, nos interesa destacar que las Citocinas son los principales mediadores de señalamiento y diferentes a los Factores de Crecimiento. Las citocinas son Péptidos o glucoproteínas reguladores, con PM de 5 a 30 kd, liberados por casi

todas las células nucleadas (especialmente los Leucocitos, Linfocitos y Fibroblastos) y muy potentes a concentraciones de pico a nanomolares. Actúan a corta y larga distancia y controlan o modulan la respuesta inmune y/o la reparación celular (crecimiento, diferenciación, metabolismo y síntesis proteica). Las principales son: Interleucinas (IL1 a IL18), Interferones, Factores estimulantes de colonias: GM-CSF, G-CSF, Quimiocinas (CXC, CXXC...), Los Factores Estimulantes de Colonias (GM-CSF, G-CSF) y TGF β y TNF α . Los Factores de Crecimiento tienen como blanco a células NO-Hematopoyéticas y las citoquinas a las inmunitarias y hematopoyéticas. Los principales serían: Hormonas como la Insulina, Progesterona, Somatomedina etc., los VEGF, EGF, FGF, IGF, PDGF y también los TGF y TNF. En la figura 2 las representamos en su relación con el SRIS²¹.

Así pues, podríamos resumir el proceso de Respuesta Inmune e Inflamatoria en los siguientes Mecanismos Patogénicos:

1. Activación de los Receptores innatos (Toll-Like Receptors): reconocen DNA, lipoproteínas, LPS... mejor si están opsonizados con complemento o PCR.
2. Liberación de Citocinas: TNF- α , IL-1 β , IL-6... y de Factores de Crecimiento.
3. Activación de Péptidos de la Coagulación y de Plaquetas (Antitrombinas, Tromboxanos, PCR, Factores plaquetarios...).
4. Activación de Mediadores metabólicos y Endocrinológicos: (PUFAs/eicosanoides, leucotrienos, RL-O3-..., Péptidos adrenérgicos-NAd-Ad-5HT,...).
5. Activación de la respuesta Inmune específica o adaptativa.

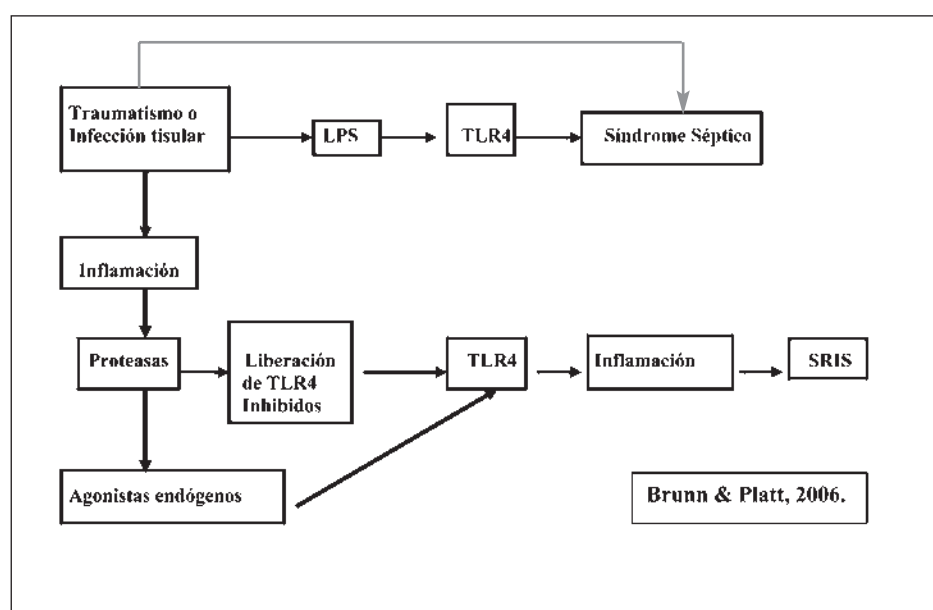


Fig. 1.—Nueva teoría sobre el desencadenamiento del SRIS (Braun&Plat-2006), la vía superior, menos marcada, es la clásica.

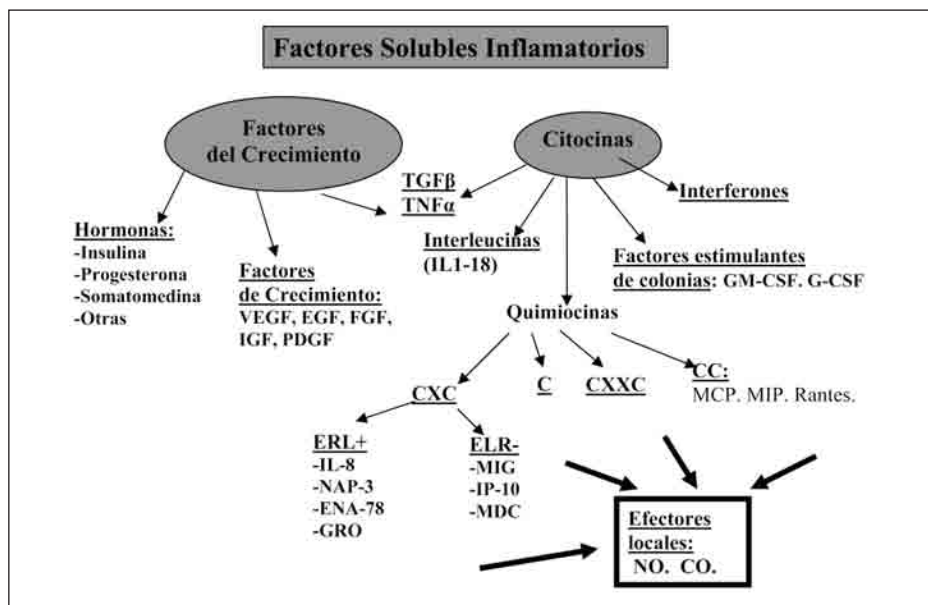


Fig. 2.—Factores solubles inflamatorios, implicados en el SRIS.

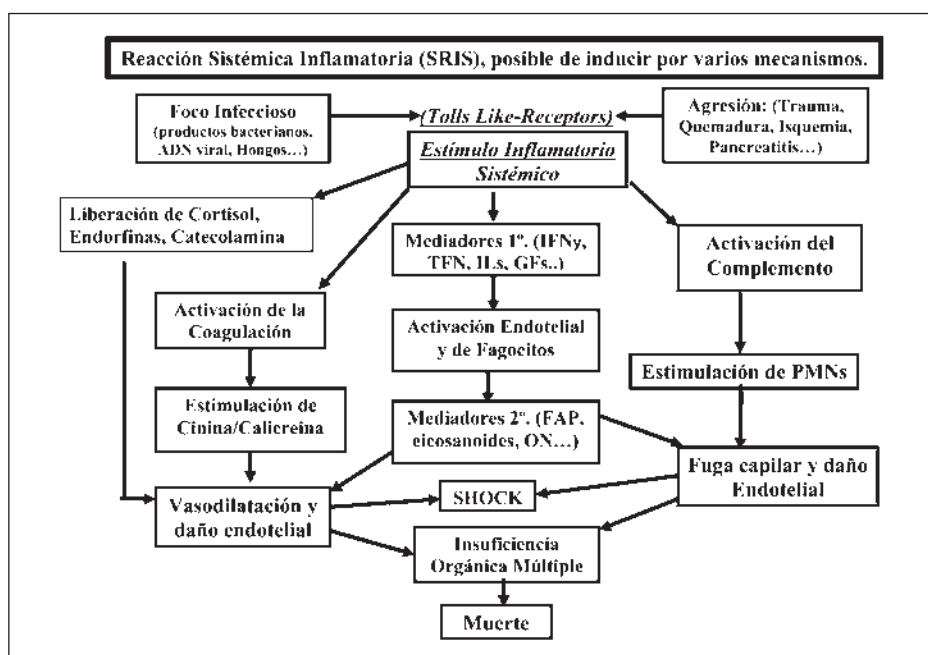


Fig. 3.—Parte de la Cascada Fisiopatológica que se desencadena tras la activación del SRIS.

6. Activación de otros Mediadores Vasculares y de la Microcirculación: (ON, CO y otros específicos de algunos órganos).

En la figura 3 se expone un esquema de todo ello.

Además, en el SRIS se producen las siguientes alteraciones metabólicas²²:

- En el Metabolismo de los Carbohidratos: 1) Hiper-glucemia y alta disponibilidad sistémica de glucosa. 2) Glicolisis. Resistencia Periférica a la Insulina. 3) Gliconeogenesis (desde lactato —Ciclo de Cori—).

- En el Metabolismo Lipídico: 1) Actividad Lipolítica. Hipertrigliceridemia (Síntesis). Cetogénesis. 2) Infiltración grasa del hígado (Macroesteatosis / Microesteatosis).
- En el Metabolismo Proteico: 1) Catabolismo proteico: Hueso, Músculo, Intestino y Tejido Conectivo. 2) Síntesis de proteínas de proteínas viscerales de la homeostasis (Ej. albumina). 3) Síntesis de proteínas de fase-aguda (en la última fase de Sepsis o SIRS). También se produce una Hiperlactatemia y una Acidosis Metabólica.

Las siguientes preguntas serían: ¿por qué debemos utilizar modelos animales y, en este caso, cuales modelos?, y, a estas, trataremos de darle respuesta en las próximas líneas.

Hemos de partir de que la filogenética del sistema inmune y de respuesta inflamatoria es muy diversa entre las diferentes especies evolutivas, por lo que, para estudiar las diferentes partes de esa respuesta inmuno-inflamatoria, tendremos que acudir a muy diversos tipos y variedad de animales. Máxime teniendo en cuenta que estamos ante hechos biológicos y también patológicos y, además, de que en la especie humana la variedad metabólica y de expresión génica entre individuos es enorme^{23,24}.

Las especies animales mas utilizadas para el estudio del Shock, Sepsis y SRIS podemos resumirlas en la tabla I, incluyendo las especies primates NO humanos. A lo anterior, hemos de añadir las actuales variedades transgénicas, que han permitido el estudio pormenorizado de la genética de los receptores, citocinas y otros mediadores implicados en el SRIS²³⁻²⁵. Se utilizan como prueba definitiva para conocer las funciones de un gen y sus efectos. O bien se expresa exageradamente dicho gen (en un organismo), y/o bien se suprime el mismo, pero siempre es más fácil sobre-expresarlo que suprimirlo. Resumimos a continuación los pasos esenciales para lograrlo:

Tabla I
Principales especies utilizadas en experimentación animal del SRIS

<i>Especie</i>	<i>Nombre científico</i>
Ratón	Mus musculus
Rata	Rattus norvegicus
Cobaya	Cavia porcellus
Hámster dorado	Mesocricetus auratus
Conejo	Oryctolagus cuniculus
Cerdo	Sus scrofa familiaris
Perro	Canis familiaris
Gato	felis catus

Lista de Primates no-humanos utilizados para el estudio del SRIS

Prosimios	Tupaia; Galago
Platirrinios	Callithrix; Cebus
Papiones	Papio cynocephalus
Catarrinos africanos	Cercopithecus aethiops (mono verde africano) Cercopithecus talapón; Cercocebus; Erythrocebus patas
Catarrinos asiáticos	Macaca nigra; M. fascicularis; M. fuscata; M. nemestrina M. mulatta (mono rhesus); M. arctoides
Antropomorfos	Pan troglodytes simia (chimpancé)

A. El proceso de sobre-expresión es el siguiente:

- 1º Se construye el fragmento de ADN que nos interesa, mediante técnicas de ADN recombinante (Trans-gén). Incluyendo todas las zonas que contiene el gen (con las regiones de promoción y la reguladora. Dependiendo del promotor utilizado, podremos expresar el gen en más o menos tejidos).
- 2º Se introduce el trans-gén en un pronucleo masculino de un huevo fecundado, mediante microinyección (alrededor de un 5% integrarán el transgén).
- 3º Se investiga en los animales la expresión del trans-gén.

B. Para conseguir expresar los efectos No-dominantes de un gen, hay que crear animales transgénico “anulados” mediante la supresión del gen a estudiar, lo que resulta mucho más difícil. Para ello se procede de la siguiente manera:

- 1º Se modifica el ADN del gen hasta hacerlo afuncional.
- 2º Se introduce este gen en un vector y en líneas celulares germinales.
- 3º Estas células germinales originan animales heterocigotos pero, cruzándolos entre sí, se consiguen animales homocigotos para ese gen mutado y anulado.

Es obvio que hay diferencias entre los resultados obtenidos entre las diferentes especies así como entre estas y la especie humana. Pero es también cierto que, en la especie humana no hay un solo modelo y que también influyen múltiples factores, como la edad, sexo, condición fisiológica o patológica, etc. (ver Fig. 4). Por ello, nunca se insistirá lo suficiente en que, los modelos animales se utilizan para entender “lo que sucede” y elaborar hipótesis que sean dignas de considerarse, con la suficiente seguridad para los ensayos humanos más definitivos.

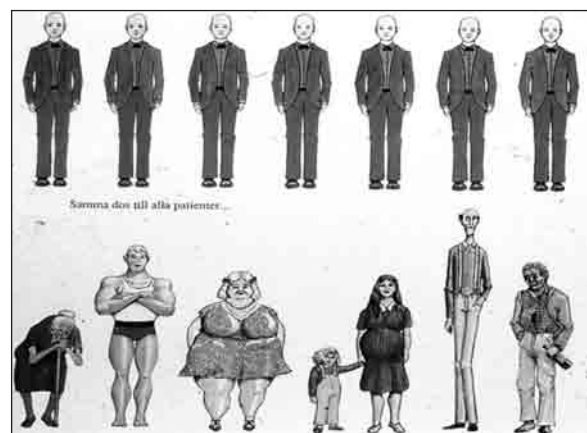


Fig. 4—Realmente, somos así, máxime en condiciones de enfermedad.

Tabla II

<i>Características</i>	<i>Modelos preclínicos</i>	<i>Sepsis grave/shock en humanos</i>
Edad	Jóvenes generalmente	+ Adultos o ancianos
Insulto	Endotoxina o microorganismo definido	Desconocido o múltiples
Tratamiento antibiótico	Variable	Siempre
Tiempo del tratamiento	Antes o poco después del insulto	Tiempo variable tras el insulto
Duración del insulto	Muy corta (aplicación de LPS en min.)	Prolongada (foco séptico y bacteriemia persistente)
Patocronia	Rápida	Lenta
Comorbilidad presente	Casi nunca	Muy frecuente
Autoanticuerpos	Desconocido	Muy frecuente
Uso de ventilación mecánica	Variable	Casi siempre
Limpieza del ambiente	Deficiente	Muy limpio
Coprofagia	Frecuente	Nunca
Tolerancia a anticoagulantes	Sí	No

En la tabla II, resumimos los modelos animales utilizados y comparados con las características de la sepsis humana. Observense las importantes diferencias, ya señaladas por otros autores²⁵.

Respecto de los modelos, creo necesario exponer dos clasificaciones posibles. La primera es la de los colegas Ramos y Lorente, de la unidad de investigación del HU Getafe y publicada en el 2005²⁵ y la segunda sería una propia. En ambas, resulta obvio que, para estudiar todos los aspectos implicados en el SRIS, máxime para realizar la transferencia clínica de resultados, hay que realizar muchos modelos.

A continuación exponemos la clasificación modificada de modelos animales para el estudio de la Sepsis y del SRIS, propuesta recientemente por este experto grupo de estudio español. (Tomado y modificado de N. Ramos y J. Lorente/2005)²⁵.

1. Elección del modelo: formulación de la pregunta de investigación.
 - 1.1. Sobre los Mecanismos Compensadores: Hiper o hipodinamia²⁶.
 - 1.2. Sobre la Progresión de la Disfunción de los Órganos: efecto del tiempo²⁷.
 - 1.3. Sobre la Activación de la Respuesta Inflamatoria²⁸.
 - 1.4. Sobre las posibles Intervenciones Terapéuticas²⁹.
2. Modelos de endotoxemia (sobre todo LPS, vía i.v.)^{25,28,30-35}.
 - 2.1. Modelos de endotoxemia en roedores (Las Ratas son + resistentes).
 - Efecto de la dosis.
 - Efecto de la duración de la administración.
 - Vía de administración.
 - Modelos de sensibilización.
 - 2.2. Modelo de Endotoxemia en ovejas (pues los Perros son + resistentes).
 - 2.3. Modelo de Endotoxemia en humanos (pues los Primates son + resistentes).

3. Modelos de infección bacteriana.
 - 3.1. Modelo de Infección bacteriana en Roedores: E. Coli en Cobayo³⁶.
 - 3.2. Modelo de bacteriemia: E. Coli en el cerdo y P. Aeruginosa en la Oveja³⁷.
 - 3.3. Modelo de bacteriemia: E. Coli en Primates³⁸.
4. Modelos de peritonitis.
 - 4.1. Peritonitis inducida mediante implantación de bacterias vivas o material fecal³⁹.
 - 4.2. Modelo de ligadura y punción del ciego: en Ratas para las peritonitis localizadas y Cobayo, Conejo y Perro para las difusas⁴⁰.
5. Modelos que reciben tratamiento⁴¹⁻⁴⁷.
 - 5.1. Tratamientos Anti-inflamatorios.
 - 5.2. Tratamientos Antibióticos.
 - 5.3. Tratamientos Anticoagulantes.
 - 5.4. Tratamientos Hemodinámicos.
 - 5.5. Tratamiento Ventilatorio.
 - 5.6. Tratamiento Quirúrgico.

Por nuestra parte, y considerando otros aspectos, como el tipo de animal, y en aras de concretar más el tipo u objetivo del estudio, así como la opinión de otros expertos internacionales, nos atrevemos a proponer otra clasificación o guía práctica siguiente:

Modelos animales para el estudio de la respuesta inflamatoria (local y sistémica):

1. Para el estudio de los genes reguladores de los receptores Innatos y Adaptativos^{18-20,48-52}:
 - Mosca *Drosophila Melanogaster* (mosca del Vinagre y de la fruta): tipo Toll-Like.
 - Cepas de Ratones Transgénicos: Tipo Sultzer-mice transgénicos (CH3/HeN: TLR4+ y -). Para la genética de los receptores IFN- γ R, JAK-STAT. Ratones deficientes en RelA, IRF5, MyD88, TLR9,7 y 3, así como los TBK1 deficientes.

- Cepas de Ratas Transgénicas resistentes a Endotoxina: Rata CH3/HeN y variantes.
 - Estudios de Expresión/Sobreexpresión de TLR en Pacientes con Sepsis/SRIS.
2. Para el estudio de los receptores de señalizadores (Citocinas ILs, TNF, y F.C: VEGF, EGF, FGF, IGF, PDGF) y de Apoptosis (activación de Caspasas): con/sin estimulación LPS y otros⁵³⁻⁵⁶.
 - Ratones transgénicos uni y doblemente defectivos.
 - Embriones de aves, ratón y otros pequeños animales (Gerviles etc, más raros).
 - Ratones Nock-Out Endogámicos C3H/HeJ, resistentes (para estudios de estimulación).
 3. Para el estudio de la respuesta frente a los señalizadores (Citocinas, Hormonas –Ins., Progest., Somatom-, Leucotri., Trombox., Prostagland., Cini-na/Calicreina, FAP, eicosanoides, ON, CO...): Se incluyen Modelos Murinos con Quemaduras y Extractos de Escaras de Quemadura⁵⁷⁻⁵⁹.
 - Modelos en Roedores: Ratones, Ratas, Cobayos y Conejos.
 - Modelos Caninos, Bovinos, Ovinos y Cerdos.
 - Modelos en Primates No-Humanos.
 - Modelos en Humanos sanos.
 4. Para el estudio de los tratamientos mediante bloqueo antiinflamatorio específico (ILs, TNF y otros): Glucocorticoides, Anticuerpos-TNF e ILs (Infliximab, Etanercept), con Drotrecogin-α (PcR), con Antisueros anti-MIP (antiquimiocinas)⁶⁰⁻⁶³:
 - Modelos con Pequeños Roedores (Ratones manipulados, y Transgénicos) e Inmunodeprimidos.
 - Modelos en Primates NO-Humanos.
 - Modelos de Ensayos Clínicos en Pacientes con Sepsis, SRIS o Inmuno-deprimidos.
 5. Modelos específicos de Sepsis⁶⁴⁻⁶⁸:
 - Mediante infusión de gérmenes (bacteriemia).
 - Vía Intravenosa:
 - + E. Coli, en Cobayas.
 - + P. Aeruginosa en Ovejas. Ideal para el estudio del Pulmón de Shock.
 - + E. Coli en Primates NH (varios Modelos).
 - Vía Intraperitoneal:
 - + Implantación de Materia fecal, con Gelatina o Bario, en Ratas.
 - + Implantación de Coagulo Infectado, en Perros.
 - Mediante ligadura/punción del ciego (LPC): Clásico y útil para el estudio de las peritonitis: usar Ratas para las peritonitis localizadas y Cobayo, Conejo y Perro para las difusas.
 6. Otros Modelos Inductores de SRIS⁶⁹⁻⁷⁰:
 - Pancreatitis: Inyección de AB/Enteroquinasa en conducto pancreático en Cerdos.
 - Mediante Hemorragia/Cirugía Abdominal + Ventilación en Ratas y otros animales.
 - Mediante Isquemia/Reperfusión Intestinales, en Roedores, Cerdos y Primates NH.



Fig. 5.—...es evidente.

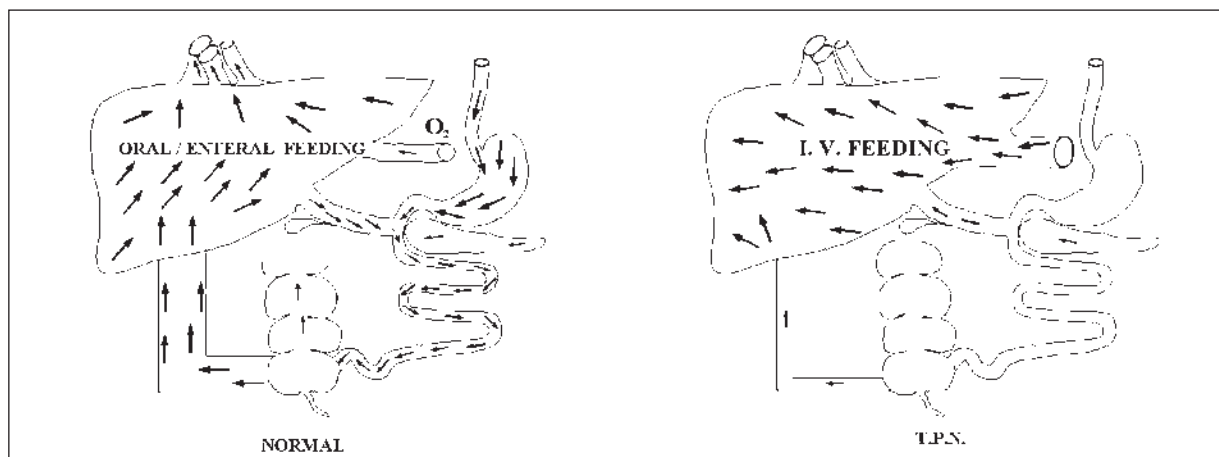


Fig. 6.—No se sigue la misma ruta metabólica, en cada vía.

7. Modelos Terapéuticos⁷¹⁻⁷⁷:

- Tratamientos Anti-Inflamatorios: Ensayos en Humanos tratados con Antag. IL-1, PC-activada y Ac Monoclonales anti TNF.
- Tratamientos Anticoagulantes: Inhibición de la Coagulación en ensayos humanos-Fase II, con anticoagulantes: Antitrombina III, PCA y TFPI.
- Tratamientos Antibióticos: Todos los ensayos pre-clínicos/Farmacológicos de Eficacia, en animales y Ensayos Humanos en Fases II y III.
- Tratamientos con Reposición de Volúmenes: Tipos Hiper o Hipodinámicos.
 - + Ensayos de hipotensión mediante iNOS, en ensayos humanos, Fase II.
 - + Ensayos de la L-N-Metil-Arginina (LNMA) en Shock Séptico en Humanos. Fase III

- Tratamientos Ventilatorios: Con Vt. Alto/baja PEEP: Conejos, Ovejas y Primates.
- Tratamientos Quirúrgicos: Todos los ensayos de Profilaxis. Los de Drenaje y los de Técnicas de Lavado y Limpieza en Procedimientos Quirúrgicos de Contaminación. Los de Infección del campo quirúrgico: Primates y Humanos.

8. Métodos alternativos^{78,79}:

1. Métodos celulares e “in vitro”:

- Para el estudio de los genes reguladores de los receptores Innatos y Adaptativos.
- Para el estudio de los receptores de Señalizadores (Citocinas ILs, TNF, y F.C: VEGF, EGF, FGF, IGF, PDGF) y de Apoptosis (activación de Caspasas).

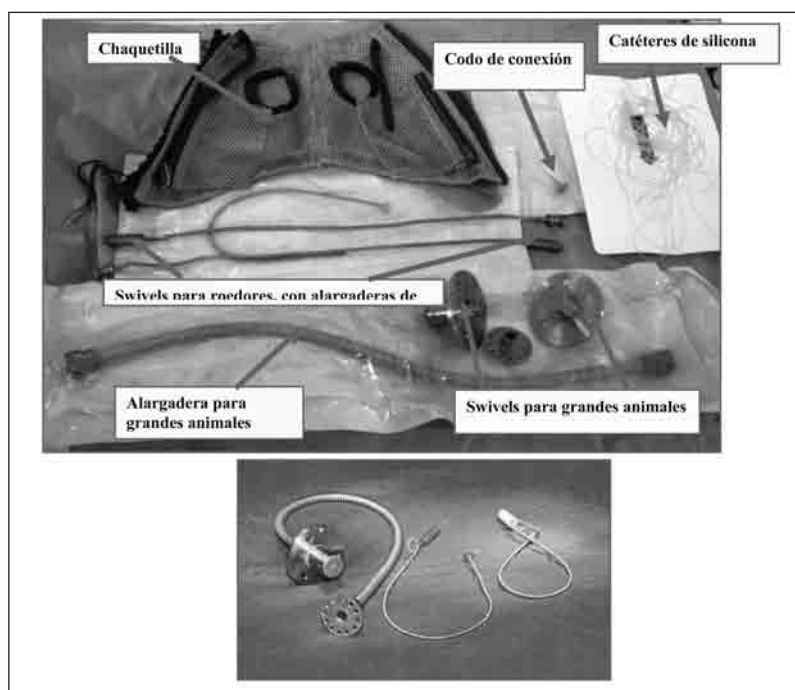


Fig. 7.—Arneses imprescindibles para la experimentación en NP.

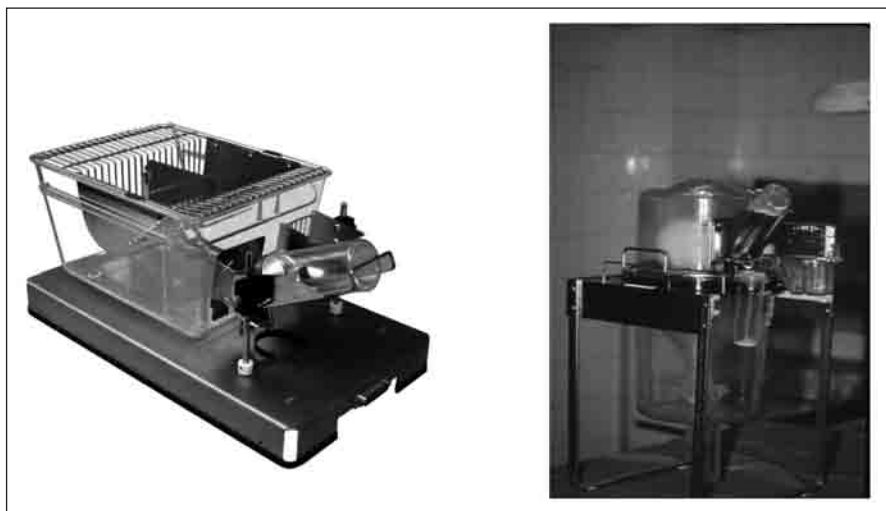


Fig. 8.—Modelos de Jaulas Metabólicas, utilizados en nuestro laboratorio experimental, para pequeños animales.

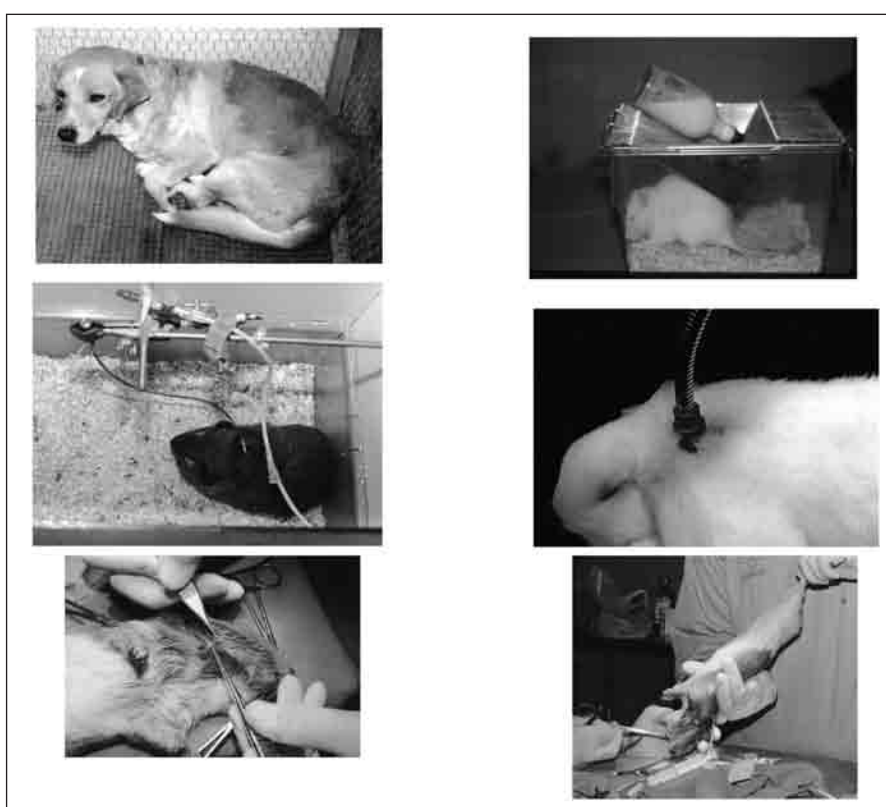


Fig. 9.—Animales con catéteres no conectados al Swivel (Perro y Rata) y otros en perfusión continua (Conejo y Cobayo), y colocándole el catéter en la vena yugular.

- Para el estudio de la respuesta frente a los señalizadores.
- 2. Experimentación en humanos⁸⁰⁻⁸²:
 - Para el estudio de tratamientos mediante bloqueo antiinflamatorio específico (ILs, TNF y otros): Glucocorticoides, Anticuerpos-TNF e ILs (Infliximab, Etanercept), con Drotrecogin- α (PcR), con Antisueros anti-MIP (anti-quimiocinas)...
 - Modelos Terapéuticos y su traslación a la clínica.

Conclusiones, para los modelos animales en el SRIS

1. No hay modelos animales capaces de reproducir de forma completa ni la sepsis ni el cuadro de sris.
2. Cada modelo animal debe ser elegido específicamente para el estudio de un aspecto concreto: genético, etiopatogénico, fisiopatológico, terapéutico etc.
3. En los aspectos terapéuticos, deben separarse los estudios hemodinámicos, pulmonares o ventilatorios, farmacológicos cardi-vasculares, de terapia anti-inflamatoria etc.

4. Las revisiones sistemáticas de estudios en animales han permitido alcanzar conclusiones que se asemejan a los resultados de ensayos clínicos.
5. Los actuales tratamientos de la sepsis y del SRIS, están basadas en ensayos clínicos que fueron diseñados en base a un gran cuerpo de conocimiento procedente de estudios pre-clínicos.
6. El estudio del SRIS en modelo pre-clínicos continúa siendo extraordinariamente necesario para avanzar en el conocimiento de la biología de la sepsis y del SRIS humanos y en el diseño de estrategias terapéuticas eficaces.

Modelos animales para el estudio de la nutrición parenteral

La Nutrición Parenteral (NP) es un tipo de nutrición muy especial pues, aunque llegásemos a administrar exactamente la misma composición en tipo y concentración de nutrientes en una bolsa y por vía Parenteral (Intravenosa o Intraperitonealmente), nunca será igual que la vía oral, ni en forma ni bioquímica, fisiológica, bromatológica ni psicológicamente. Y ello es así, en primer lugar, porque la vía influye decisivamente para la digestibilidad y metabolización de los substratos por parte del tubo digestivo e hígado y, por tanto, para su posterior uso y corporal^{83,84} (ver figs. 5 y 6).

En primer lugar, veremos cuales deberían ser las condiciones básicas para los estudios experimentales en NP:

1. Las especies animales a utilizar, deben estar bien definidas como animales de laboratorio y ser genéticamente homogéneas⁸⁵.
2. Los animales transgénicos utilizados deben ser estabulados en condiciones SPF y usados para objetivos muy concretos⁸⁶.
3. La cantidad de animales a utilizar y el diseño experimental deben estar estadísticamente bien definidos —con antelación— y en función de los objetivos principales (main goals), evitándose el utilizarlos para otros “objetivos secundarios”^{85,87}.
4. Recordar que los tiempos de Infusión parenteral son siempre “relativamente” cortos, pero no pudiéndose “trasladar” los tiempos de vida de unas especies a otras. Es decir: 2 semanas de NP en un perro, no quieren decir, necesariamente, un equivalente a 3-4 meses de NP en un humano^{87,88}.
5. La experimentación en NP exige del uso de arneses muy específicos y homologados que permitan la movilidad adecuada del animal y la reducción del estrés. Además, los experimentos que exijan un balance metabólico completo, deben hacerse en jaulas específicas, que permitan una mensuración precisa de dicho balance. Finalmente, en lo referente a procedimientos tecnológicos, la administración de dicha NP, exige la colocación de

catéteres intravenosos (o intraperitoneales), que han de hacerse en condiciones asépticas y dejarlos en condiciones de adecuada estanqueidad y, en caso de la vía venosa, en anticoagulación^{87,89} (ver figs. 7, 8 y 9).

6. La extrapolación de resultados extraídos de los modelos animales debe ser progresiva, en escala y muy acotada a los resultados obtenidos. Los resultados sirven para entender los fenómenos etiopatogénicos, fisiopatológicos, bioquímicos, farmacológicos o de otro tipo, y programar los correspondientes proyectos de estudio en humanos, pero no para extrapolaciones y aplicaciones directas⁹⁰.

Pasaremos ahora a valorar la importancia del diseño experimental en los modelos animales para estudios de la NP. Es decir, los diseños experimentales recomendables y previamente definidos que, en nuestra opinión pueden resumirse en dos^{87,88,91,92}:

- A. De Muestras Apareadas (lineales), donde comparamos la evolución de la variable a lo largo del tiempo. Por ejemplo, tomando datos de la misma a lo largo de 24 h o de días o semanas. En ellas se comparan los datos evolutivos, con los niveles “basales” (el control es el Tº cero). Estos estudios ahorran animales y son mas “fiables”. Ej. curvas metabólicas, de absorción....
- B. De Muestras Independientes (o de Grupos frente al Control): son necesarios cuando comparamos la variable y parámetros analizados en diferentes condiciones experimentales. Los resultados obtenidos en los “grupos experimentales” los comparamos frente a los de un Grupo Control. Gastan más animales y el diseño tiene menos fiabilidad. Han de usarse cuando, por el objeto de estudio, no se pueden usar los de Muestras Apareadas.

Existen otros, pero o son de excepcional aplicación o pueden evitarse.

Hacemos la siguiente “Propuesta de Clasificación”, para estudios de la NP.

- Modelos Animales para el estudio de la Vía Parenteral^{85,93,94}: Deben ser los animales más parecidos anatómicamente al ser humano: primates y, en casos de agotamiento de vías, las pruebas en los propios pacientes.
- Modelos Animales para el estudio de la absorción y tolerancia locales en la vía de administración (central, periférica, peritoneal...) ⁹⁵⁻⁹⁸: Inicialmente, Roedores: Rata, Cobayo, Conejo (de tipos Standard), para los estudios individuales con cada preparado y también para los estudios de posibles interferencias entre estos y con otras medicaciones. Posteriormente, podemos pasar a Perros, cerdos (¿o primates?).

- Modelos para el estudio de las Complicaciones: (complicaciones mecánicas, infecciosas, metabólicas o viscerales asociadas a la NP)⁹⁹⁻¹⁰⁶: Modelos de grandes animales, como cánidos, cerdos, (¿primates?). Para conocer muy en detalle estas posibles complicaciones es necesario pasar a la fase de ensayos clínicos con pacientes. Para el estudio de las complicaciones hepato-biliares asociadas a la NP, deben desecharse la rata y el ratón.
- Modelos para el estudio de la Farmacodinamia, Metabolización y de la Tolerancia de nuevas moléculas o sustratos (Nutrigenómica)¹⁰⁷⁻¹¹⁰: Roedores genéticamente similares (Rata/ratón), transgénicos. Aquí podríamos también incluir aquellos modelos animales para reproducir enfermedades o déficit enzimáticos (Favismo, Aminoacidosis, Diabetes, Hipertrigliceridemias y Colesteronemias etc.), que pudieran padecer algunos pacientes y que obligarían a estudios con sustratos muy específicos: En este caso, sería casi obligado el uso de Roedores transgénicos.

Bibliografía sobre modelos animales en el SRIS

1. Archivald D, Ditchfield R: The contribution of Laboratory Animal Science to welfare of man and animals. Academic Press. New York. 1985.
2. Hau J, Van Hoosier GL: Handbook of Laboratory Animal Science. Vol. 1. 2nd. CRC Press. Boca Ratón. FL. 2003.
3. Fox JG, Cohen BJ, Loew FM: Laboratory Animal Medicine. Academic Press. London. 1984.
4. Dukelow WR: Nonhuman Primate Models for Human Disease. CRC Press Boca Ratón, FL. 1983.
5. Gay WI: Methods of Animals Experimentation. Research Surgery and care of the Research Animal. Vol VII; Part. C. Surgical Approaches to the organ Systems. Academic Press. London. 1985.
6. First NL, Haseltine FP: Transgenic Animals. Science Tech. Publishers. Madison, New York. 1991.
7. Cohen IK, Diegelmann RF, Linblad WJ: Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects. WB Saunders. Boston, Philadelphia. 1992.
8. Morán JM: Tratamiento y cicatrización de las heridas. Cap. 18. en Fundamentos de Práctica Quirúrgica. JA Rodríguez Montes. Ed, Ramón Areces. Madrid. 2005.
9. Wilmore DW, Dudrick SJ: Growth and Development of a infant receiving all nutrients exclusively by vein. *JAMA* 1968; 203: 260.
10. Miján de la Torre A: Técnicas y Métodos de Investigación en Nutrición Humana. Parte I y II. Caps. 1, 5, 14. Ed. Glosa. Barcelona, 2002.
11. Farriol M; Schartz S: Modelos Experimentales en la Investigación Metabólica y Nutricional. Cap. 17. Pág 345. En Avances en Nutrición Artificial. S. Celaya. Ed. S.P. Univ. Zaragoza. Zaragoza. 1993.
12. O'Donoghue P: European Regulation of Animal Experiments. *Lab. Animal*. 1992; 21, 8: 20-25.
13. BOE: Real Decreto 223/1988 y Real Decreto 1201/2005.
14. Parrillo JE: Shock syndromes related to sepsis. In Cecil: Textbook of Medicine. 21st edn. (Goldman L, Bennett JC, eds). WB Saunders, Philadelphia. 2000.
15. Hardaway RM: A review of septic shock. *Am Surg* 2000; 66: 22-29.
16. Taylor F, Levi M, Artigas A y cols.: Sepsis: Inflammation disorder, coagulation disorder, or both? A challenge for clinicians. *Crit Care Med* 2001; 29 (Supl.): S107-S109.
17. Adelais GT, George HS, George A, John B: Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective. *Med Sci Monit* 2005; 11: 76-85.
18. Medzhitov R: A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997; 388: 394-397.
19. Medzhitov R, Janeway CA Jr: Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science* 2002; 296: 298-300.
20. Brunn GJ, Platt JL: The Etiology of Sepsis: Turned Inside Out. *Trends in Molecular Medicine* 2006; 12: 10-16.
21. Fink MP: Función de las Citocinas como Mediadoras de la Respuesta Inflamatoria. En Townsend Ed., Tratado de Cirugía (edición Esp.). Cap. 4. Elsevier. Madrid, 2005.
22. García de Lorenzo A, Ordóñez González FJ: Nutrición en la Inflamación Aguda. En Tratado de Nutrición. Tomo IV; Cap.26. A. Gil. Ed. Acción Médica. Madrid. 2005.
23. Hinshaw LB: Application of Animal Shock Models to the Human. *Circ Shock* 1985; 17: 205-212.
24. Freise H, Brückner UB: Animal Models of Sepsis. *J Invest Surg* 2001; Vol. 14: 195-212.
25. Ramos N, Lorente JA: Modelos Experimentales de Sepsis. *Rev Electr de Med Intensiva* 2005; 5: C34.
26. Curtis SE, Cain SM: Regional and systemic oxygen delivery/uptake relations and lactate flux in hyperdynamic, endotoxin-treated dogs. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 348-345.
27. Stahl TJ, Alden PB, Rings WS, Madoff RF, Cerra FB: Sepsis-induced diastolic dysfunction in chronic canine peritonitis. *Am J Physiol* 1990; 258: H625-H633.
28. Brockhaus M: Soluble TNF Receptor: what is the significance. *Intensive Care Med* 1997; 23: 808-809.
29. Wichterman K, Baue AE, Chaudry IH: Sepsis and septic shock- a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res* 1980; 29: 189-201.
30. MacLean LD, Weil MH: Hypotension (shock) in dogs produced by Escherichia coli endotoxin. *Circ Res* 1956; 4: 546-556.
31. Danner RL, Elin RJ, Reilly JM, Hosseini JM, Schlesinger TL, Parrillo JE: Endotoxemia in human septic shock. *Crit Care Med* 1988; 16: 317-323.
32. Aasen AO, Rishovd AL, Stadaas JO: Role of endotoxin and proteases in multiple organ failure. *Progr Clin Biol Res* 1989; 308: 305-314.
33. McKechnie K, Furman BL, Parratt JR: Metabolic and cardiovascular effects of endotoxin infusion in conscious unrestrained rats: effects of methylprednisolone and BW755C. *Circ Shock* 1985; 15: 205-215.
34. Bahrami S, Redl H, Buurman WA, Schlag G: Endotoxin shock related disorders induced by high- versus low-dose lipopolysaccharide (LPS) injection in rats. *Eur Surg Res* 1991; 23: S1-60.
35. Suffredini AF, Fromm RE, Parker MM, Brenner M, Kovaks JA, Wesley RA, Parrillo JE: The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med* 1989; 321: 280-287.
36. Durkot MJ, Wolfe RR: Hyper and hypodynamic models of sepsis in guinea pigs. *J Surg Res* 1989; 46: 118-122.
37. Mustard RA, Fisher J, Hayman S, Matlow A, Mullen JBM, Odumeru J, Roomi MW, Scouten BD, Swanson HT: Cardiopulmonary responses to Pseudomonas septicemia in swine: an improved model of the adult respiratory distress syndrome. *Lab Anim Sci* 1989; 39: 37-43.
38. Schlag G, Redl H, Hallström S, Radmore K, Davies J: Hyperdynamic sepsis in baboons: I. Aspects of hemodynamics. *Circ Shock* 1991; 34: 311-318.
39. Natanson C, Danner RL, Fink MP, MacVittie TJ, Walker RI, Conklin JJ, Parrillo JE: Cardiovascular performance with E. Coli challenges in a canine model of human sepsis. *Am J Physiol* 1988; 254: H558-H564.
40. Fink MP, Heard SO: Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res* 1990; 49: 186-196.
41. Fink MP, Kaups KL, Wang H, Rothschild HR: Maintenance of superior mesenteric arterial perfusion prevents increased intestinal mucosal permeability in endotoxic pigs. *Surgery* 1991; 110: 153-160.

42. Wilson MA, Chou MC, Spain DA, Downard PJ, Quian Q, Cheadle WG, Garrison RN: Fluid resuscitation attenuates early cytokine mRNA expression after peritonitis. *J Trauma* 1996; 41: 622-627.
43. Barke RA, Birkliid S, Chapin RB, Roy S, Brady PS, Brady LJ: The effect of surgical treatment following peritoneal sepsis on hepatic gene expression. *J Surg Res* 1996; 60: 101-106.
44. Tang C, Liu MS: Initial externalization followed by internalization of β -adrenergic receptors in rat heart during sepsis. *Am J Physiol* 1996; 270: R254-R263.
45. DeMarsh PL, Wells GI, Lewandowski TF, Frey CL, Bhatnagar PK, Ostovic EJ. Treatment of experimental gram-negative and gram-positive bacterial sepsis with the hemoregulatory peptide SK&F 107647. *J Infect Dis* 1996; 173: 203-211.
46. Donnenberg MS: Pathogenic strategies of enteric bacteria. *Nature* 2000; 406: 768-774.
47. Triantafilou M: The dynamics of LPS recognition: complex orchestration of multiple receptors. *J Endo Res* 2005; 11: 22-31.
48. Kiechl S: Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N Engl J Med* 2002; 347: 185-192.
49. Beutler B: Sepsis begins at the interface of pathogen and host. *Biochem Soc Trans* 2001; 29: 853-859.
50. Beutler B: Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature* 2004; 430: 257-263.
51. Poltorak A: Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 1998; 282: 2085-2088.
52. Akira S, Takeda K: Toll-like receptor signaling. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 499-511.
53. Arbour NC y cols.: TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet* 2000; 25: 187-191.
54. Leturcq DJ: Antibodies against CD14 protect primates from endotoxin induced shock. *J Clin Invest* 1996; 98: 37-42.
55. Knuefermann P: CD14-deficient mice are protected against lipopolysaccharide induced cardiac inflammation and left ventricular dysfunction. *Circulation* 2002; 106: 221-25.
56. Redl H: Clinical detection of LPS and animal models of endotoxemia. *Immunobiology* 1993; 187: 162-71.
57. Jing Ch, Y-Ping Z, Xin-Zhou R: An experimental study on systemic inflammatory response syndrome induced by subchar tissue fluid. *Burns* 2000; 26: 149-55.
58. Junming L, Vilcek J: Tumor Necrosis Factor and Interleukin-1: Cytokines with multiple overlapping Biological activities. *Lab Invest* 1987; 234-48.
59. Refsum SE, Halliday MI, Campbell G, McCaigue M, Rowlands BJ, Boston VE: Modulation of TNF α and IL-6 in a peritonitis model using Pentoxifylline. *J Ped Surg* 1996; 31: 928-930.
60. Zeni F, Freeman B, Natanson C: Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: A reassessment. *Crit Care Med* 1997; 25: 1095-1100.
61. Panacek EA, Marshall JC, Albertson TE, Johnson DH, Johnson S, MacArthur FD, Miller M y cols.: Efficacy and safety of the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody F(ab')₂ fragment afelimomab in patients with severe sepsis and elevated interleukin-6 levels. *Crit Care Med* 2004; 32: 2173-2182.
62. Marshall JC. Such stuff as dreams are made of: mediator-directed therapy in sepsis. *Nature Drug Discovery* 2003; 2: 391-405.
63. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF y cols.: Efficacy and safety of recombinant human Activated Protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001; 344: 699-709.
64. Hinshaw LB y cols.: Detection of 'hyperdynamic state' of sepsis in the baboon during lethal E. coli infusion. *J Trauma* 1983; 23: 22-28.
65. Pass LJ, Schloerb PR, Pearce FJ, Drucker WR: Cardiopulmonary response of the rat to gram-negative bacteremia. *Am J Physiol* 1984; 246: H344-H350.
66. Oderdonk AB, Weinstein WM, Sullivan NM, Gorbach SL. Experimental intraabdominal abscesses in rats: quantitative bacteriology of infected animals. *Infect Immun* 1974; 10: 1256-1259.
67. Simon GL, Galfand GA, Connolly RA, O'Donnell TF, Gorbach SL: Experimental bacteroides fragilis bacteremia in a primate model: evidence that bacteroides fragilis does not promote the septic shock syndrome. *J Trauma* 1985; 25: 1156-1162.
68. Wichterman K, Baue AE, Chaudry IH: Sepsis and septic shock- a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res* 1980; 29: 189-201.
69. Burch JM, Moore EE, Moore FA, Franciose R: The Abdominal Compartment Syndrome. *Surg Clin North Am* 1996; 76: 833-42.
70. Rezendo-Neto JB, Lázaro da Silva A, Cunha-Melo JR: Animal model of the Abdominal Compartment syndrome as a single insult and as a second insult in rats. *Acta Cir Bras (Online)*. 2003; 18: 29-35.
71. Wilson MA, Chou MC, Spain DA, Downard PJ, Quian Q, Cheadle WG, Garrison RN: Fluid resuscitation attenuates early cytokine mRNA expression after peritonitis. *J Trauma* 1996; 41: 622-627.
72. Read TE, Grunfeld C, Kumwenda ZL, Calhoun MC, Kane JP, Feingold KR, Rapp JH: Triglyceride-rich lipoproteins prevent septic death in rats. *J Exp Med* 1995; 182: 267-272.
73. Tang C, Liu MS: Initial externalization followed by internalization of β -adrenergic receptors in rat heart during sepsis. *Am J Physiol* 1996; 270: R254-R263.
74. Fox GA, Paterson NAM, McComark DG: Cyclooxygenase inhibition and vascular reactivity in a rat model of hyperdynamic sepsis. *Am J Physiol* 1994; 267: H1377-H1382.
75. Walker JF, Cumming AD, Lindsay RM, Solez K, Linton AL: The renal response produced by nonhypotensive sepsis in a large animal model. *Am J Kidney Dis* 1986; 8: 88-97.
76. Wilkins TD, Walker CB, Nitzan D, Salyers AA: Experimental infections with anaerobic bacteria in mice. *J Infect Dis* 1977; 135: S13-S17.
77. Donnenberg MS: Pathogenic strategies of enteric bacteria. *Nature* 2000; 406: 768-774.
78. Balls M: Replacement of animals procedures: Alternatives in Research. *Laboratory Animals* 1994; 28: 193-211.
79. Imai Y, Parodo J, Kajikawa O, Fisher S y cols.: Injurious Mechanical Ventilation and end-organ epithelial cell apoptosis and organ dysfunction in an experimental model of acute respiratory distress syndrome. *JAMA* 2003; 289: 2104-2112.
80. López A, Lorente JA, Steingrub J, Bakker J, McLuckie A y cols.: Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of nitric oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32: 21-30.
81. Boujoukos AJ y cols.: Compartmentalization of the acute cytokine response in humans after intravenous endotoxin administration. *J Applied Physiol* 1993; 74: 66-71.
82. CT Esmon: Why do Animal Models of Sepsis (sometime) Fail to Mimic Human Sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32: S219-S222.
83. Morán JM, Salas J, Macía E: ¿Qué Sucede en el Hígado Durante la Alimentación Artificial? *Nutr Hosp* 2001; Vol. XVI: 145-151.
84. Gil Hernández A (ed): en Tratado de Nutrición. Tomo IV: Nutrición Clínica. Ed: Grupo Acción Médica. Madrid, 2005.
85. Hau J, Van Hoosier GL: Handbook of Laboratory Animal Science. Vol.-1, Cap. 12. Vol.-2, Cap. 1, 2, 9. 2nd. CRC Press. Boca Ratón. Fl. 2003.
86. Mc Donald JD: Production of Mouse models for the study of human errors of metabolism. *Mol Genet Metab* 2000; 71: 240-244.
87. Miján de la Torre A: Técnicas y Métodos de Investigación en Nutrición Humana. Parte I y II. Caps. 1, 5, 14. Ed. Glosa. Barcelona, 2002.
88. Zúñiga JM, Tur JA, Milocco SN: Ciencia y Tecnología en protección y experimentación animal. Cap. 3: Fases de un experimento y elección del modelo (587-603). Ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 2001.
89. Espin-Jaime MT, Moran JM, Macía E, Salas J, Botello F: Composición lipídica hepática tras NPT con LCT vs MCT/LCT como fuente de aporte. *Nutr Hosp* 1996; 11 (Supl.): 36-39.

90. American Institute of Nutrition. Second Report of the ad hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J Nutr* 1980; 107: 1437-1734
91. Hollander M, Wolfe D: Nonparametric statistical methods. In: Probability and Mathematical methods. Wiley, New York. 1973.
92. Dunn O: Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics* 1964; 6: 241-254.
93. Dukelow, WR: Nonhuman Primate Models for Human Disease. CRC Press Boca Ratón, Fl. 1983.
94. Gay WI: Methods of Animals Experimentation. Research Surgery and care of the Research Animal. Vol VII; Part. C. Surgical Approachs to the organ Systems. Academic Press. London. 1985.
95. Moran JM, Cruz G, Nogueras F, Saenz Santamaría J, Vinagre LM, García Sancho L: Transperitoneal absorption of intralipid in rats: total serum fatty acids and triglyceride after absorption. *JPEN* 1986; 10: 604-08.
96. Morán JM, Salas J, Mahedero G: A pharmacokinetic study of peritoneal absorption of glucose and alanine in rats: nutritional implications. *JPEN* 1998; 22: 72-76.
97. Gamito F, Moran JM, Salas J, Limon M, Climent V: Long-term peritoneal nutrition in dogs: metabolic and histopathologic results. *Nutrition* 1989, 5: 89-93.
98. Morán JM, Maciá E, Salas J, Mahedero G, Climent V: Liver lipid composition and intravenous, intraperitoneal and enteral administration of intralipid. *Nutrition* 1994; 10: 26-31.
99. Langrehr JM, Reilly MJ, Banner B, Warty VJ, Lee KKW, Schraut WH: Hepatic steatosis due to total parenteral nutrition: the influence of short-gut syndrome, refeeding, and small bowel transplantation. *J Surg Res* 1991; 50: 335-343.
100. Ekelund M, Roth B, Trelde H, Ekstrom U, Nilsson-Ehle P: Effects of total parenteral nutrition on lipid metabolism in rats. *JPEN* 1994; 18: 503-509.
101. Maciá E, Morán JM, Salas J, Mahedero G, Cruz G, Climent V, Molina M: Effect of Intrali-pid® overdose on brain lipid composition in the adult rabbit and its relation with the route of administration. *Nutr Res* 1995; 6: 881-888.
102. Das JB, Poulos ND, Ansari GG: Biliary lipid composition and bile acid profiles during and after enteral fast or total parenteral nutrition in the rabbit. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; 22: 85-91.
103. Morán JM, Salas J, Botello F, Maciá E, Climent V: Taurine and Cholestasis associated to TPN. Experimental study in rabbit model. *Pediatr Surg Internat* 2005; 21: 786-792.
104. Yousef IM, Tuchweber B, Vonk RJ, Masse D, Audet M, Roy CC: Lithocholate cholestasis-sulfated glycolithocholate-induced intrahepatic cholestasis in rats. *Gastroenterology* 1981; 80: 233-241.
105. Eizaguirre I, García-Urkia AB, Asensio A, Cano A, Samprón N, García-Arenzana JM, Bachiller P, Aldazabal P: Descontaminación Intestinal Selectiva y Hepatopatía asociada a la NP. *Cir Pediatr* 2006; 19: 147-150.
106. Nair P, Kanvar SS, Nath Sanyal SN: Effect of Non Steroidal Anti-Inflammatory drugs on the Antioxidant Defense system and the membrane functions in the rat intestine. *Nutr Hosp* 2006; 21: 638-649.
107. Hugues B, Rodríguez-García JC, Rodríguez-González JC, Marrero MT: Animales de Experimentación como modelos de la diabetes Tipo-2. *Rev Cub Endocrinol* 2002; 13: 163-72.
108. Rajani VK, Mahesswara UR, Raju TN: Behavioral, Morphological and Physiological shift in the rats administered with Tryptophan deficient regimen. *Nutr Hosp* 2006; 21: 596-603.
109. Charles River Laboratories: Rats for Metabolic Models. www.criver.com
110. The Jackson Laboratory: JAX® Mice Data Sheet. www.jaxmicejax.org

Revisión

Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2

J. Arias-Díaz y J. Balibrea

Departamento de Cirugía. Hospital Clínico San Carlos. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. España.

Resumen

Aún persisten múltiples incógnitas acerca de los mecanismos patogénicos de una enfermedad tan prevalente hoy día como es la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). El avance en la prevención y tratamiento de la misma dependerá en gran parte de la comprensión de estos mecanismos y para ello es imprescindible seguir utilizando modelos animales en los que realizar experimentos que serían éticamente inaceptables en humanos.

La DM2 representa un heterogéneo grupo de enfermedades caracterizado por un aumento en la resistencia a la acción de la insulina en los tejidos periféricos y un deterioro en la secreción de dicha hormona por parte de la célula β pancreática, encontrándose ambas anomalías íntimamente imbricadas. La citada heterogeneidad de la DM2 se ve así mismo reflejada en la gran diversidad de modelos animales útiles para su estudio.

Se revisan los principales modelos de DM2, clasificándolos, según su mecanismo de producción, en espontáneos e inducidos. También se distinguen dos categorías en cada uno de ellos: modelos análogos, que intentan imitar a la enfermedad humana, y modelos intrínsecos, con los que se pretende contestar preguntas concretas de aspectos específicos de la misma.

La decisión acerca del modelo a usar para un experimento en particular es a menudo multifactorial. De modo ideal, los experimentos deberían ser llevados a cabo en varios modelos diferentes, teniendo en cuenta que ninguno de ellos refleja por completo la complejidad de la DM2 humana y que se deben extremar las precauciones a la hora de hacer cualquier tipo de extrapolación a la clínica.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:160-68)

Palabras clave: *Diabetes mellitus tipo 2. Modelos experimentales diabetes. Ratas BB. Síndrome metabólico. Resistencia insulínica.*

Correspondencia: Javier Arias-Díaz
Departamento de Cirugía. Hospital Clínico San Carlos
Facultad de Medicina. Universidad Complutense
Ciudad Universitaria
28040 Madrid
E-mail: javardi@gmail.com

Recibido: 2-XI-2006.

Aceptado: 9-XI-2006.

ANIMAL MODELS IN GLUCOSE INTOLERANCE AND TYPE-2 DIABETES

Abstract

There still are many unknown facts about the pathogenic mechanisms of such a prevalent disease nowadays as type-2 diabetes mellitus (DM2). The advances in diabetes prevention and management will greatly depend on the understanding of these mechanisms; therefore, it will be essential to keep on using animal models on which carrying out experiments that would be unethical in humans.

DM2 represents a heterogeneous group of diseases characterized by an increase in insulin resistance at peripheral tissues and a deterioration in insulin secretion by pancreatic β -cells, both abnormalities being highly interwoven. The mentioned heterogeneity of DM2 is also reflected by the high diversity of useful animal models for its study.

The main DM2 models are reviewed, classifying them by their mechanism of action in spontaneous or induced. Also, two categories in each one of them are distinguished: analogous models, which try to imitate the human disease, and intrinsic models, with which we pretend to answer specific questions about the disease.

The decision about which model to use for a particular experiment usually is multifactorial. Ideally, the experiments should be carried out in several different models, taking into account that none of them completely reflects the complexity of human DM2 and that precautions should be taken when trying to extrapolate the findings to the clinical practice.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:160-68)

Key words: *Diabetes mellitus type 2. Diabetes mellitus. Experimental. Rats. Inbred BB. Metabolic syndrome X. Insulin resistance.*

Introducción

La diabetes mellitus comprende un espectro de enfermedades con una característica común: la hiperglicemia. Ésta puede ser debida a un déficit casi absoluto de insulina (diabetes tipo 1, diabetes juvenil o insulina-dependiente) o a un déficit relativo de la misma (diabetes tipo 2). Las manifestaciones clínicas de la diabetes tipo 1 se conocen desde antiguo, aunque sólo en fecha relativamente reciente se ha reconocido su patogenia autoinmune. En el caso de la diabetes tipo 2, las células β pancreáticas no pueden secretar insulina de modo adecuado, generalmente en presencia de un aumento progresivo de la resistencia periférica a dicha hormona. Aún persisten múltiples incógnitas acerca de los acontecimientos que dan lugar a la disfunción de la célula β , tanto a nivel fisiológico como molecular. La comprensión de los mismos es imprescindible para el avance en la prevención y tratamiento de esta enfermedad, que ya afecta a cerca de 150 millones de personas en todo el mundo.

Todavía hay muchos impedimentos para el estudio de la diabetes en seres humanos. Éstos incluyen heterogeneidad genética, una esperanza de vida larga, una amplia diversidad de estilos de vida, relativa inaccesibilidad a tejidos y órganos y, por supuesto, consideraciones de tipo ético. El uso de modelos animales soslaya algunos de estos problemas, pero, obviamente, la extrapolación de resultados de animales al hombre (y viceversa) conlleva cierto riesgo. No obstante, las ventajas inherentes a la experimentación animal han permitido obtener gran cantidad de información valiosa acerca de la patogénesis de la enfermedad. En 1922, Banting, Best, Collip y colaboradores publicaron su histórico artículo describiendo la curación de la diabetes mellitus en un perro¹. A partir de entonces se utilizaron ampliamente tanto perros como animales de otras especies para analizar diversos parámetros biológicos y fisiológicos de la diabetes.

Diabetes tipo 1

Tras el descubrimiento de la insulina, la disponibilidad de modelos animales para el estudio de la patogénesis de la diabetes tipo 1 se demoró sin embargo otros 50 años. Uno de los primeros modelos fue la insulinitis experimental inducida mediante administración de preparaciones de insulina en diversas especies animales. Este tipo de modelos reproducían los hallazgos morfológicos de la insulinitis, pero raramente indujeron hiperglicemia. Más adelante, en ratones, llegaron descripciones de la diabetes con un posible componente inmune tras infección con el virus de la encefalomiocarditis, así como tras la administración de dosis bajas múltiples de estreptozotocina, que inducía tanto insulinitis como hiperglicemia².

Aunque la diabetes espontánea no es una enfermedad exclusiva del hombre, las descripciones de la enfermedad en animales son muy escasas. En 1974, se observó que una rata en los laboratorios de BioBreed-

ing en Canadá desarrolló espontáneamente diabetes con insulinitis y cetoacidosis. Algunos años más tarde, un ratón que también desarrolló diabetes e insulinitis espontáneas fue descubierto en el Japón. Ambos modelos, la rata de BioBreeding (BB) y el ratón diabético no-obeso (NOD), se han convertido en los modelos experimentales más importantes de diabetes tipo 1³. La investigación se encuentra más avanzada en el caso del ratón NOD, ya que las tecnologías genéticas tipo knock-out y transgénicos tienen mayor difusión en ratones, así como una mayor variedad de anticuerpos específicos se hallan disponibles comercialmente para esta especie. Además, la rata BB se caracteriza por un tipo de inmunodeficiencia grave, por lo que tiene poco en común con la mayoría de los humanos que sufren diabetes. Durante las últimas dos décadas, han aparecido miles de artículos que, utilizando estos modelos y otros similares, sugieren nuevas hipótesis inmunológicas y novedosas estrategias de intervención terapéutica para la diabetes tipo I.

Diabetes tipo 2

En 1866, G. Harley, un médico inglés, notó que existían, al menos, dos formas diferentes de diabetes mellitus; y, en 1880, E. Lancereaux, hizo la distinción entre las formas de diabetes mellitus del obeso (*diabete gras*) y del delgado (*diabete maigre*)⁴. Aunque la insulina se descubriera en la década de los 20, la comunidad médica seguía perpleja ante las diferentes manifestaciones clínicas de las dos formas de diabetes mellitus. En 1931, W. Falta y R. Boller, describieron la diferencia entre las formas insulina-sensible e insulina-resistente de la enfermedad⁵, pero la primera evidencia directa de que la forma de inicio precoz (juvenil) se diferenciaba de la del adulto por la ausencia de insulina circulante llegó en 1951, con el desarrollo de un bioensayo para detectar insulina en sangre⁶. Poco después se documentó que los extractos de páncreas procedentes de diabéticos juveniles tenían niveles de insulina casi indetectables⁷. Draper y cols., entretanto, habían clasificado la diabetes mellitus en grupo I y II de acuerdo a parámetros físicos (jóvenes delgados y adultos con exceso de grasa corporal, respectivamente)⁸. Lister y cols. insistieron así mismo en esta distinción, y designaron los dos tipos corporales como tipo I y II⁹, pero dicha terminología no tuvo general aceptación hasta 1976, cuando fue reintroducida por A. G. Cudworth¹⁰.

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) representa un heterogéneo grupo de enfermedades caracterizado por un aumento en la resistencia a la acción de la insulina en los tejidos periféricos y un deterioro en la secreción de dicha hormona por parte de la célula β pancreática¹¹. Ambas anomalías se encuentran íntimamente imbricadas, pero, en la mayoría de los enfermos, la resistencia a la insulina precede a la disfunción manifiesta de las células β , y se piensa que tiene su origen en una predisposición genética. Además, puede observarse

disfunción subclínica de las células β en familiares de primer grado no diabéticos de pacientes con DM2, lo cual es consistente con la hipótesis de que el fracaso de la célula β se encuentra también determinado genéticamente¹². Por otro lado, de modo similar a lo que ocurre en los pacientes con diabetes tipo 1, en la gran mayoría de casos de DM2 el control de la glicemia muestra un deterioro inexorable con el tiempo, conduciendo a complicaciones tales como ceguera, neuropatía, nefropatía y enfermedad cardiovascular.

Hoy en día se reconoce que algunos subtipos de DM2 son secundarios a defectos monogénicos, tales como el síndrome juvenil de diabetes del adulto (*maturity-onset diabetes of the young* —MODY—)¹³, síndromes de resistencia grave a la insulina¹⁴ y la llamada diabetes mitocondrial¹⁵. Sin embargo, en la mayoría de los pacientes con DM2, varios (si no múltiples) factores genéticos y ambientales contribuyen tanto al origen como a la progresión y complicaciones tardías de la enfermedad.

La identificación de los genes responsables permitiría avanzar en el conocimiento de los mecanismos que mantienen los niveles normales de glucosa y cuya disfunción provoca la enfermedad. Además, podría ayudar a obtener fármacos antidiabéticos más eficaces, diseñados para contrarrestar la anomalía específica, así como a identificar los individuos de riesgo que más podrían beneficiarse de tratamientos y/o cambios en el estilo de vida antes de que la enfermedad se desarrolle.

La predisposición a la resistencia insulínica y/o a la disfunción de células β se hereda de forma no Mendeliana¹⁶, debido a su heterogeneidad genética y patogénica multigénica. Además, factores medioambientales tales como dieta inadecuada e inactividad física pueden modular las manifestaciones del genotipo (penetrancia incompleta) o bien imitar la contribución genética, dando lugar a fenocopias¹⁷. Así pues los estudios genéticos humanos acerca de la predisposición a la resistencia insulínica están plagados de incertidumbres y se ven complicados además por las considerables variaciones existentes en el pool genético humano. Este es el motivo de que se hayan diseñado multitud de modelos animales (en su gran mayoría, ratones) transgénicos y knock-out, portadores de mutaciones en genes requeridos para la secreción y/o acción de la insulina, como método de análisis de un sistema genético de semejante complejidad.

La obesidad y la consiguiente resistencia a la insulina son un prelude habitual de la DM2 humana. Por tanto, no es de extrañar que se hayan usado modelos animales de obesidad para intentar aprender más sobre la enfermedad humana. Algunas cepas mantienen la euglicemia a base de desarrollar una sólida y persistente respuesta compensadora de las células β , imitando la resistencia a la insulina con hiperinsulinemia asociada. El ratón *ob/ob* y las ratas *fa/fa* ejemplifican dicho fenómeno. Otros, tales como el ratón *db/db* y el *Psammomys obesus* (ver más adelante) desarrollan rápidamente hiperglicemia, ya que sus células β son incapaces de mantener durante toda su vida los elevados

niveles de producción insulínica requeridos. La investigación de estos modelos puede ayudar a explicar porqué algunos humanos con obesidad mórbida nunca desarrollan DM2 mientras que otros desarrollan hiperglicemia con grados de resistencia a la insulina y obesidad relativamente modestos.

Modelos de diabetes tipo 2

La DM2 puede presentarse espontáneamente en los animales, habiendo sido reconocida la enfermedad en diversos mamíferos, incluyendo tanto animales domésticos como ganado y animales mantenidos en cautiverio; puede también ser inducida de forma experimental y, en ocasiones, combinarse ambas causas.

Tal como era de esperar, los modelos animales de DM2 son tan complejos y heterogéneos como lo es el propio síndrome en humanos. En el espectro patogénico de la DM2 se encuentra todo el rango de posibilidades, predominando en algunos animales la resistencia a la insulina mientras que, en extremo opuesto, otros sufren sobre todo disfunción de las células β . También pueden aportar información valiosa para la DM2 humana aquellos modelos donde la intolerancia a la glucosa es parte de un fenotipo más complejo, tal como el que incluye obesidad, dislipemia e hipertensión. No se puede hablar de modelos mejores y peores, pues sólo interpretando los datos procedentes de los diversos modelos es como más probablemente surgirán avances significativos de utilidad para la enfermedad humana.

En una primera clasificación, podemos dividir los modelos de DM2 según su mecanismo de producción en modelos espontáneos e inducidos. Además, en cada uno de ellos se pueden distinguir dos categorías: modelos análogos y modelos intrínsecos (tabla I). Esta

Tabla I
Clasificación de los modelos animales de diabetes mellitus tipo 2

1. Modelos espontáneos

1.1. Modelos análogos

- La rata Goto-Kakizaki (GK)
- El ratón obeso de Nueva Zelanda (NZO)
- El ratón KK
- *Psammomys obesus* (rata israelí de la arena)
- La rata OLETF (*Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rat*)

1.2. Modelos intrínsecos

- El ratón *db/db*
- El ratón *ob/ob*
- El ratón *Agouti*
- La rata Zucker (*fa/fa*)

2. Modelos inducidos

- 2.1. Inducción hormonal
- 2.2. Administración de fármacos
- 2.3. Manipulación genética

última distinción es más útil en el caso de modelos espontáneos, por lo que sólo la utilizaremos en éstos. Los modelos análogos son útiles como sustitutos de la enfermedad humana, y permiten hasta cierto punto hacerla accesible a la experimentación. Los modelos intrínsecos, a diferencia de los anteriores no tratan de imitar la enfermedad humana, sino que sirven para contestar preguntas concretas de aspectos específicos de la misma. Por ejemplo, existen una serie de mutaciones aisladas que se asocian con obesidad y aparición de DM2 en ratones. Tal como discutimos previamente, en humanos es raro que la obesidad o la diabetes surjan como consecuencia de una mutación única; por tanto esos ratones ejemplifican modelos intrínsecos, no análogos, de diabetes. Sin embargo, de modo inesperado, los estudios con ratones portadores de mutaciones *ob* y *db* condujeron al descubrimiento de una molécula clave involucrada en la fisiología del apetito y la regulación energética, la leptina. Un modelo de DM2 inicialmente intrínseco, como el ratón *db*, se convirtió en un modelo análogo de anomalía en la regulación del apetito. Por tanto, los modelos intrínsecos y análogos pueden intercambiar sus papeles, una vez que aprendemos a reconocer la realidad que hay tras las apariencias.

1. Modelos espontáneos

Se trata de estirpes que se mantienen relativamente inalteradas mediante cruces endogámicos y que proceden bien de un animal en el que se ha detectado diabetes espontánea, bien de una serie de cruces selectivos favoreciendo un determinado rasgo fenotípico de la DM2 humana. A veces no son totalmente “espontáneos” en el sentido que se requieren modificaciones dietéticas adicionales para generar la diabetes en el seno de una predisposición genética, es el ejemplo del *Psammomys obesus* que comentamos más abajo.

1.1. Modelos análogos

Se han sometido a análisis genético un amplio abanico de modelos análogos de DM2 intentando descubrir nuevos genes de susceptibilidad para extrapolar su estudio a humanos. A continuación resumimos los modelos de este tipo más conocidos, destacando por su importancia de dos de ellos: la rata Goto Kakizaki (GK) y el ratón obeso de Nueva Zelanda (*New Zealand Obese*, NZO), una cepa seleccionada por su predisposición a DM2 inducida por obesidad, la cual se asemeja bastante a la DM2 humana.

1.1.1. La rata Goto-Kakizaki (GK)

El mejor modelo espontáneo de DM2 es la rata GK, que fue desarrollado en la década de los 90 por dos investigadores japoneses mediante cruces endogámicos recurrentes de ratas no diabéticas (Wistar), pero con niveles plasmáticos de glucosa en el límite alto de la

normalidad¹⁸. Dicho modelo reproduce bien las principales características de la DM2 humana: hiperproducción de glucosa, reducción de la tolerancia a la misma, deterioro en la secreción de insulina, aumento de la resistencia periférica a la insulina y alteración en el metabolismo lipídico. Típicamente, la glicemia en ayunas está sólo ligeramente elevada, pero aumenta considerablemente tras la ingesta de glucosa. Al nacer, la rata GK presenta un número reducido de islotes de Langerhans¹⁹.

Este modelo sugiere la participación de 6 regiones cromosómicas en la etiología de la enfermedad²⁰⁻²², aunque los genes responsables aún parecen encontrarse lejos de ser identificados. Aparte del determinismo genético, dicho modelo sugiere así mismo la existencia de factores epigenéticos, de tal manera que la hiperglicemia *in utero*, cuando la hembra GK expone a su feto a niveles altos de glucosa, puede ser responsable del desarrollo anormal de las primeras células β en el esbozo pancreático²³, de ahí la idea de que la DM2 humana pueda tener su origen en el desarrollo fetal temprano y permanecer posteriormente latente durante décadas.

Al igual que otros modelos animales de diabetes, la rata GK desarrolla algunas características que pueden ser comparadas con las complicaciones de la diabetes humana, incluyendo lesiones renales²⁴, cambios estructurales en los nervios periféricos²⁵ y anomalías en la retina²⁶. La investigación de estos fenómenos representa otro ejemplo de cómo el uso de modelos animales abre áreas que no podrían ser fácilmente estudiadas en el humano. Por ejemplo, sería éticamente inaceptable llevar a cabo biopsias seriadas de tejido nervioso o renal, y asimismo sería difícil medir las concentraciones intraoculares de factores de crecimiento sin recurrir a dichos modelos. Sin embargo, es cierto que existen diferencias entre las complicaciones observadas en animales y en humanos, y está en discusión si actualmente se dispone de algún modelo animal que refleje de modo fiable las complicaciones de la diabetes humana.

1.1.2. El ratón obeso de Nueva Zelanda (NZO)

Se trata de una cepa endogámica de ratones originaria de Nueva Zelanda y seleccionada por obesidad poligénica²⁷. Los ratones NZO de ambos sexos presentan elevado peso desde su nacimiento y aumento de su grasa corporal, que refleja predominantemente hipertrofia de los adipocitos más que hiperplasia de los mismos.

El desarrollo de diabetes en este modelo representa un complejo fenómeno tipo umbral en el que la tasa de adiposidad precoz establece un nivel diabetogénico de resistencia a la insulina²⁸. Los ratones NZO machos desarrollan hipertensión cuando se les somete a una dieta con elevado contenido graso. A las 8 semanas de vida, a pesar de la obesidad, los ratones permanecen normoglicémicos y con niveles plasmáticos de insuli-

na y leptina no demasiado elevados. La hiperglicemia es de aparición tardía (alrededor de la semana 16) y evolución crónica una vez establecida. Como anomalías metabólicas precoces se han documentado tanto resistencia a la insulina como excesiva producción de glucosa por parte del hígado²⁹.

1.1.3. El ratón KK

El ratón de la cepa KK es uno de los modelos poligénicos más adecuados como análogos de la DM2 con obesidad moderada. La cepa original se obtuvo en Japón, mediante cruces seleccionando los individuos con mayor peso³⁰ y, de modo característico, estos ratones adquieren obesidad gradual cuando se hacen adultos, además de resistencia a la insulina, hiperinsulinemia compensadora e hiperplasia de células insulares, apareciendo finalmente una discreta hiperglicemia³¹.

La ingesta alimenticia es un factor de importancia para la gravedad del fenotipo diabético y la restricción de la ingesta calórica reduce tanto la obesidad como la hiperglicemia en estos ratones. En diversas partes del mundo se han criado distintas líneas de ratón KK que, debido a la deriva genética y cruces endogámicos, actualmente difieren tanto genotípica —como fenotípicamente entre sí. Por ejemplo, en una cepa de ratón KK el *Azgp1*, un gen que codifica para una glicoproteína, ha sido propuesto como parcialmente responsable de la predisposición a obesidad y diabetes³², pero no está claro que ello sea cierto para otras cepas. Aunque todos los ratones KK proceden en última instancia de la colonia original descrita en 1967³⁰, existen actualmente diferencias en las cepas mantenidas en diferentes laboratorios, debido a la dificultad en asegurar un 100% de homogeneidad genética dentro de las cepas endogámicas, incluso tras numerosas generaciones de cruces selectivos. Además, pueden surgir nuevas mutaciones espontáneas algunas de las cuales pueden quedar “fijadas” en una determinada cepa y no en otras. Esta puede ser la explicación de la falta de concordancia entre estudios diseñados para buscar los loci genéticos que confieren susceptibilidad a la DM2 en este modelo³³. Tales diferencias deben ser siempre tenidas en cuenta cuando se comparan resultados de experimentos similares realizados en distintos laboratorios aunque aparentemente usen el mismo modelo animal de diabetes.

1.1.4. *Psammomys obesus* (rata israelí de la arena)

En su hábitat natural, el *Psammomys obesus* sigue una dieta esencialmente vegetariana, sin embargo, cuando se alimenta con dieta estándar de rata de laboratorio, se hace obeso, resistente a la insulina e hiperglicémico³⁴. Si además se usa una dieta rica en colesterol, los animales desarrollan hiperlipidemia y aterosclerosis³⁵. Al igual que en la DM2 humana, el estado hiperglicémico se asocia con un aumento de los niveles de proinsulina y productos de fragmenta-

ción, presumiblemente debido a la elevada demanda de secreción insulínica por la resistencia periférica a dicha hormona. También se ha encontrado alteración en la biosíntesis de insulina en los islotes de Langerhans³⁶.

Al igual que ocurre con el ratón KK, este modelo es particularmente útil para estudiar los efectos de la dieta y el ejercicio³⁷ sobre el desarrollo de la DM2.

1.1.5. La rata OLETF (*Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rat*)

En 1984, dentro de una colonia de ratas Long-Evans (Charles River, Canada), se descubrió una rata con diabetes espontánea, poliuria, polidipsia y discreta obesidad. Desde entonces, se mantiene una línea de ratas procedentes de aquella en la compañía farmacéutica Otsuka y se las denomina por ello OLETF³⁸. Sus características incluyen: a) un desarrollo tardío de la hiperglicemia (tras 18 semanas de edad); b) un curso crónico de la enfermedad; c) discreta obesidad; d) aparición clínica de diabetes principalmente en los machos; e) participación de múltiples genes diabéticos recesivos, la transmisión de uno de los cuales (denominado *odb-1*) se encuentra ligada al cromosoma X, y f) nefropatía diabética, en forma de glomeruloesclerosis difusa y lesiones nodulares. Además, existen alteraciones en los islotes pancreáticos que pueden ser clasificadas en tres estadios: a) precoz (menos de 9 semanas de edad), con discreta infiltración linfocitaria; b) hiperplásico (10-40 semanas de edad), con incremento del número de células y fibrosis dentro o alrededor de los islotes, y c) final (más de 40 semanas de edad), con atrofia de los islotes. Las citadas manifestaciones clínicopatológicas de las ratas OLETF se asemejan bastante a las de la DM2 humana.

Es de destacar que las ratas OLETF son portadoras de un alelo nulo para el gen de la colecistoquinina A (CCK-A), lo cual conlleva una capacidad reducida para procesar las señales gastrointestinales de saciedad tras la ingesta de nutrientes. Esto puede ser la causa de un aumento de la cantidad de alimento en cada ingesta, con hiperfagia y obesidad³⁹. Además, los análisis de patrones de expresión génica hipotalámica indican la presencia de un déficit primario en la señalización del neuropéptido Y en el hipotálamo dorsomedial. Así pues, la obesidad en la rata OLETF puede ser debida al mal funcionamiento de dos vías de regulación, una periférica, como es la saciedad tras la ingesta, y otra relacionada con mecanismos centrales críticos para el mantenimiento del balance energético global⁴⁰.

La DM2 de las ratas OLETF puede ser prevenida eficazmente mediante el ejercicio cuyo efecto protector perdura al menos 3 meses tras el cese del mismo⁴¹. También la administración de insulina logra evitar tanto la disfunción de las células β como los cambios morfológicos en el páncreas⁴².

1.2. Modelos intrínsecos

Existen multitud de modelos portadores de mutaciones localizadas que resultan en rasgos fenotípicos imitando alguna de las manifestaciones clínicas de la DM2. En la mayoría de los casos se trata de modelos murinos, por ser los ratones de nuevo más adecuados que las ratas para las técnicas de manipulación y análisis genéticos. Como comentamos previamente, estos modelos son valiosos sobre todo para el estudio de la fisiología y de los mecanismos patogénicos que intervienen en la DM2 y sus complicaciones tardías. Vamos a comentar aquí brevemente sólo los modelos de este tipo más conocidos.

1.2.1. El ratón *db/db*

El “gen de la diabetes” (*db*) se transmite de modo autosómico recesivo y codifica una mutación puntual (G a T) en el gen del receptor de la leptina, dando lugar a un déficit de señalización de dicha hormona adipocitaria⁴³. La mutación *db/db* muestra muchas de las características de la DM2 humana⁴⁴. La evolución de estos ratones es bifásica, mostrando primero hiperinsulinemia y después hipoinsulinemia. La fase hiperinsulinémica aparece alrededor de los 10 días, acusando ya discreta elevación de la glucemia alrededor del mes y siendo franca la hiperglicemia a las 8 semanas de edad. A los 5 ó 6 meses, el peso corporal comienza a descender en paralelo con una degeneración de las células β de los islotes⁴⁵, entrando en la fase hipoinsulinémica.

1.2.2. El ratón *ob/ob*

A diferencia de los mutantes *db/db*, los ratones *ob/ob* son portadores de una mutación en el gen de la propia leptina⁴⁶. Representa un buen modelo para el estudio de la obesidad, siendo la incidencia de diabetes en estos ratones relativamente baja. Esta cepa tiene además una esperanza de vida más larga y sintomatología menos acentuada que la del mutante *db/db*.

1.2.3. El ratón *Agouti*

El producto del gen *agouti* codifica una proteína de 131 aminoácidos que contiene una secuencia señalizadora. Dicha proteína es producida en el folículo piloso donde actúa paracrinamente como un antagonista del receptor de la hormona estimulante de melanocitos (MSH). Aquí inhibe la producción de eumelanina inducida por la MSH, causando un color amarillento de su pelaje⁴⁷. Además, una proteína relacionada con el *agouti* también es un potente antagonista selectivo de los subtipos 3 y 4 del receptor de la melanocortina (Mc3r y Mc4r), los cuales son expresados en el hipotálamo y están implicados en la regulación del peso corporal. Los ratones homocigotos para diferentes mutaciones, ya sean Ay (letal) o Avy (viable), en el gen *agouti* muestran un fenotipo complejo con obesidad y resistencia a la insulina, además de su típico color amarillo⁴⁷.

En humanos, *agouti* se expresa en varios tejidos, incluyendo el adiposo⁴⁸, sugiriendo que podría estar implicado en la regulación de la homeostasis energética. En un estudio reciente, ratones transgénicos sobreexpresando *agouti* en tejido adiposo mostraron sobrepeso sin alteración de su ingesta, indicando que el aumento de su grasa corporal puede ser secundario a alteración de su metabolismo energético⁴⁹. Este hallazgo tiene especial relevancia porque sugiere que la expresión de *agouti* en el tejido adiposo humano tiene importancia fisiológica.

1.2.4. La rata Zucker (*fa/fa*)

También llamada ZDF (*Zucker Diabetic Fatty Rat*) aludiendo a su característico fenotipo obeso. La mutación “fatty” (*fa*) fue publicada por Zucker and Zucker en 1961⁵⁰. Los animales homocigotos para el alelo *fa* (receptor de la leptina no funcionante) son apreciablemente obesos ya a las 3 a 5 semanas de vida. Para la semana 14, su composición corporal consta de más de un 40% de lípidos. La obesidad se hereda de modo recesivo y los animales afectados son hiperlipidémicos, hipercolesterolémicos e hiperinsulinémicos, y desarrollan hipertrofia e hiperplasia adipocitaria, semejando la obesidad humana, por ello la rata Zucker es el mejor conocido y más ampliamente usado modelo genético de obesidad humana de comienzo precoz. La rata ZDF presenta tanto resistencia a la insulina (como resultado del receptor mutado de leptina, que causa obesidad), como inadecuada compensación por parte de la célula β . Esto último parece depender de un defecto transcripcional en la célula β , que se hereda independientemente de la mutación del receptor de la leptina y la resistencia a la insulina⁵¹. Las ratas con genotipos homocigoto dominante (+/+) y heterocigoto (*fa*+/+) no presentan obesidad ni hiperglicemia.

La rata Zucker no ha sido utilizada tan extensamente como modelo de DM2, probablemente porque, a diferencia de los ratones *db/db* y *ob/ob*, su hiperglicemia es discreta⁵², existiendo variaciones entre colonias. Sin embargo, presenta algunas complicaciones similares a la DM2 humana⁵³, así como hiperinsulinemia secundaria a resistencia periférica a la insulina, la cual es especialmente marcada en el músculo e hígado⁵⁴.

2. Modelos inducidos

Se pueden reproducir en animales una o más de las manifestaciones clínicas de la DM2 humana mediante diversos métodos, siendo los más utilizados actualmente los métodos genéticos que generan modelos intrínsecos con mutaciones específicas.

2.1. Inducción hormonal

La administración de corticoides en diversos períodos de la vida del animal puede causar un estado simi-

lar a la DM2 humana⁵⁵, este modelo sería especialmente apropiado para el estudio de la DM2 que aparece en humanos trasplantados o en tratamiento esteroideo crónico por otro motivo, pudiendo considerarse por tanto un modelo de los que hemos clasificado como “análogos”. Otras hormonas que pueden causar hiperglicemia en animales son la somatostatina, el glucagon, las catecolaminas y la tiroxina.

2.2. Administración de fármacos

Otros modelos están basados en la administración de determinadas sustancias con efectos tóxicos sobre las células β . Por ejemplo, la estreptozotocina (STZ), un antibiótico utilizado en la quimioterapia del cáncer, induce DM2 en roedores recién nacidos no predispuestos, mediante la destrucción de sus células β . Otro fármaco utilizado a veces con el mismo fin es el aloxano⁵⁶.

La STZ es un derivado de la nitrosourea aislado del *Streptomyces achromogenes* con actividad antibiótica y antineoplásica de amplio espectro⁵⁷. Se trata de un potente agente alquilante que interfiere con el transporte de glucosa⁵⁸ y la función de la glucokinasa⁵⁹, e induce múltiples puntos de ruptura en doble hélice del DNA⁶⁰. En este sentido, la STZ actúa como un caballo de Troya, ya que su molécula consta esencialmente de glucosa ligada a un fragmento reactivo de nitrosourea, y como tal es internalizada a través de los transportadores celulares de glucosa. Una vez dentro, el fragmento de nitrosourea es liberado y ejerce su actividad tóxica. Dado que las células β pancreáticas son más activas que las demás en la captación de glucosa (tienen que monitorizar continuamente sus niveles plasmáticos), también resultan más sensibles al efecto tóxico de la STZ.

La sensibilidad a la STZ varía según la especie animal, la cepa, el sexo, la edad y el estado nutricional. El modo y ruta de su administración resultan determinantes para su efecto. Una única dosis importante de estreptozotocina puede inducir diabetes en roedores, probablemente debido a efecto tóxico directo. De modo alternativo, se puede usar en forma de múltiples dosis pequeñas (p. ej., 40 mg/kg en 5 días consecutivos). Administrada de este modo, induce una diabetes insulínopénica en la que interviene el sistema inmune, tal como ocurre en la diabetes DM1 humana. El modelo de baja dosis múltiple de estreptozotocina ha sido ampliamente utilizado para estudiar los acontecimientos inmunológicos que conducen a la insulinitis y muerte celular β ⁶¹⁻⁶⁴, sin embargo, sigue produciendo diabetes incluso en ausencia de células T y B funcionantes⁶⁵, lo que sugiere que, aún a estas dosis, permanece cierto grado de toxicidad sobre las células β , predispóniéndolas al fracaso en presencia de algún tipo de sobrecarga o simplemente con el tiempo. De este modo, se ha utilizado el modelo de administración neonatal de STZ como modo de producir un modelo de DM2 en los roedores ya adultos^{66,67}.

La principal ventaja de los modelos basados en administración de fármacos es que el grado de alteración de las células β puede ser regulado de acuerdo con la dosis de toxina administrada. Su gran desventaja reside en que rara vez la diabetes humana es causada por un tóxico de este tipo.

2.3. Manipulación genética

La introducción de las técnicas de biología molecular dio lugar a la aparición de un gran número de modelos animales útiles para el estudio de la DM2. Al modificar genes específicos, dichas técnicas permiten, al menos teóricamente, generar modelos casi “a la carta”, por ejemplo se pueden producir ratones que sobreexpresen o carezcan de una proteína determinada, que sospechamos juegue algún papel en el metabolismo de la glucosa. Este tipo de modelos se ha desarrollado especialmente en ratones debido a que hay más herramientas moleculares y tecnologías disponibles para esta especie⁶⁸.

Los tipos de manipulaciones que afectan a un gen específico y que pueden interesar para producir un modelo son:

- a) Sobreexpresión, da lugar a ratones llamados transgénicos.
- b) Eliminación: da lugar a ratones llamados “knock-out”.
- c) Reemplazo (con una forma alterada): da lugar a ratones llamados “knock-in”.

Los animales transgénicos se obtienen mediante la incorporación de un gen modificado (transgen) en el pronúcleo de un oocito fertilizado, siendo implantado posteriormente éste en una madre adoptiva. El transgen se incorpora de modo aleatorio en el genoma y sólo una pequeña proporción de oocitos fertilizados dará lugar a una primera generación que expresa el gen de interés.

Para obtener animales “knock-out” y “knock-in” se elimina, altera o sustituye el gen correspondiente en células troncales embrionarias, las cuales se inyectan en un embrión precoz, en el cual se integran, dando lugar a animales quiméricos. En los animales en los que las células descendientes de las inyectadas dan lugar a línea germinal, el gen de interés estará en sus gametos y pasará a la descendencia. Con cruces selectivos obtendremos animales con una o con ambas copias del gen alteradas.

En el ratón hay 22.000 a 25.000 genes, de los cuales varios cientos han sido ya selectivamente modificados con el fin de investigar su función. No todas las modificaciones resultan en descendencia viable, lo cual se ha intentado obviar con un refinamiento técnico ulterior, dando lugar a los llamados “knock-out” o “knock-in” condicionales. En esencia, esta variante consiste en hacer que se exprese el gen modificado sólo en determinados tejidos o bien en determinado mo-

mento del desarrollo elegido por el investigador, con lo cual se logra que el ratón se desarrolle y sea viable para poder ser estudiado.

Los modelos generados mediante este tipo de herramientas moleculares no se encuentran sin embargo exentos de limitaciones. Por el simple hecho de aumentar o disminuir la expresión de un gen estamos induciendo la alteración de otros muchos por un mecanismo compensador. Por ejemplo, eliminando por completo el gen del sustrato 1 del receptor de la insulina (IRS1) serían de esperar consecuencias fisiológicas más importantes que las que se obtienen, dado el papel central que posee dicha proteína en la señalización intracelular⁶⁹, en este caso la redundancia en la cascada de señalización de la insulina es capaz de anular prácticamente por completo los efectos de la manipulación genética. Por el contrario, los “knock-out” homocigotos para el gen del sustrato 2 del receptor de la insulina (IRS2) desarrollan diabetes alrededor del día 10 de vida, junto con resistencia hepática a la insulina y reducción en la masa de células β pancreáticas⁷⁰.

Conclusión

Existen multitud de modelos experimentales potencialmente útiles para el estudio de los diversos aspectos de la DM2 humana. La decisión acerca del modelo a usar para un experimento en particular es a menudo multifactorial. De modo ideal, los experimentos deberían ser llevados a cabo en varios modelos diferentes, aunque en la práctica los grupos de investigación tienden a acumular experiencia con una cepa determinada. En cualquier caso, es necesario comprender que, en general, un modelo animal a lo más que puede aspirar es a representar un aspecto o subtipo de DM2 humana, y que, por tanto, hay que extremar las precauciones a la hora de hacer cualquier tipo de extrapolación a la clínica.

Referencias

- Banting FG, Best DH, Collip JB, Campbell WR, Fletcher AA. Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus. Preliminary report. *CMAJ* 1922; 22: 141-146.
- Rossini AA, Mordes JP. Insulin dependent diabetes mellitus, experimental models. En: Roitt IM, editor. *Encyclopedia of Immunology*. San Diego: Academic Press, 1992: 872-877.
- Mordes JP, Bortell R, Blankenhorn EP, Rossini AA, Greiner DL. Rat models of type 1 diabetes: genetics, environment, and autoimmunity. *Ilar Journal* 2004; 45 (3): 278-291.
- Gale EA. The discovery of type 1 diabetes. *Diabetes* 2001; 50(2):217-26.
- Falta W, Boller R. Insularer und insulinresistenter diabetes. *Klin Wochenschr* 1931; 10: 438-443.
- Bornstein J, Lawrence RD. Two types of diabetes mellitus, with and without available plasma insulin. *BMJ* 1951; 1:732.
- Wrenshall GA. Extractable insulin of pancreas. *Diabetes* 1952; 1: 87-107.
- Draper G, Dupurtuis CW, Caughey JL. *Human Constitution in Clinical Medicine*. New York: Harper, 1944.
- Lister J, Nash J, Ledingham U. Constitution and insulin sensitivity in diabetes mellitus. *BMJ* 1951; 1: 376-379.
- Cudworth AG. The aetiology of diabetes mellitus. *Br J Hosp Med* 1976; 16: 207-216.
- Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; 414 (6865): 799-806.
- Polonsky KS, Sturis J, Bell GI. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Non-insulin-dependent diabetes mellitus —a genetically programmed failure of the beta cell to compensate for insulin resistance. *N Engl J Med* 1996; 334 (12): 777-83.
- Stride A, Hattersley AT. Different genes, different diabetes: lessons from maturity-onset diabetes of the young. *Ann Med* 2002; 34 (3): 207-16.
- Krook A, O'Rahilly S. Mutant insulin receptors in syndromes of insulin resistance. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1996; 10 (1): 97-122.
- Maassen JA, LM TH, Van Essen E, Heine RJ, Nijpels G, Jhangir Tafrechi RS, y cols. Mitochondrial diabetes: molecular mechanisms and clinical presentation. *Diabetes* 2004; 53 (Supl. 1): S103-9.
- Bell GI, Polonsky KS. Diabetes mellitus and genetically programmed defects in beta-cell function. *Nature* 2001; 414 (6865): 788-91.
- Lander ES, Schork NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science* 1994; 265 (5181): 2037-48.
- Goto Y, Kakizaki M. Production of spontaneous diabetic rats by repetition of selective breeding. *Tohoku J Exp Med* 1976; 119: 85-90.
- Miralles F, Portha B. Early development of beta-cells is impaired in the GK rat model of type 2 diabetes. *Diabetes* 2001; 50 (Supl.) 1: S84-8.
- Galli J, Li LS, Glaser A, Ostenson CG, Jiao H, Fakhrai-Rad H, y cols. Genetic analysis of non-insulin dependent diabetes mellitus in the GK rat. *Nat Genet* 1996; 12 (1): 31-7.
- Gauguier D, Froguel P, Parent V, Bernard C, Bihoreau MT, Portha B y cols. Chromosomal mapping of genetic loci associated with non-insulin dependent diabetes in the GK rat. *Nat Genet* 1996; 12 (1): 38-43.
- Galli J, Fakhrai-Rad H, Kamel A, Marcus C, Norgren S, Luthman H. Pathophysiological and genetic characterization of the major diabetes locus in GK rats. *Diabetes* 1999; 48 (12): 2463-70.
- Gill-Randall RJ, Adams D, Ollerton RL, Alcolado JC. Is human Type 2 diabetes maternally inherited? Insights from an animal model. *Diabet Med* 2004; 21 (7): 759-62.
- Janssen U, Phillips AO, Floege J. Rodent models of nephropathy associated with type II diabetes. *J Nephrol* 1999; 12 (3): 159-72.
- Murakawa Y, Zhang W, Pierson CR, Brismar T, Ostenson CG, Efendic S y cols. Impaired glucose tolerance and insulinopenia in the GK-rat causes peripheral neuropathy. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18 (6): 473-83.
- Sone H, Kawakami Y, Okuda Y, Sekine Y, Honmura S, Matsuo K y cols. Ocular vascular endothelial growth factor levels in diabetic rats are elevated before observable retinal proliferative changes. *Diabetologia* 1997; 40 (6): 726-30.
- Bielschowsky M, Bielschowsky F. A new strain of mice with hereditary obesity. *Proc Univ Otago Med Sch* 1953; 31: 29-31.
- Reifsnyder PC, Churchill G, Leiter EH. Maternal environment and genotype interact to establish diabetes in mice. *Genome Res* 2000; 10 (10): 1568-78.
- Veroni MC, Proietto J, Larkins RG. Evolution of insulin resistance in New Zealand obese mice. *Diabetes* 1991; 40 (11): 1480-7.
- Nakamura M, Yamada K. Studies on a diabetic (KK) strain of the mouse. *Diabetologia* 1967; 3 (2): 212-21.
- Ikeda H. KK mouse. *Diabetes Res Clin Pract* 1994; 24 (Supl.): S313-6.
- Gohda T, Makita Y, Shike T, Tanimoto M, Funabiki K, Horiuchi S y cols. Identification of epistatic interaction involved in obesity using the KK/Ta mouse as a Type 2 diabetes model: is Zn-alpha2 glycoprotein-1 a candidate gene for obesity? *Diabetes* 2003; 52 (8): 2175-81.

33. Shike T, Hirose S, Kobayashi M, Funabiki K, Shirai T, Tomino Y. Susceptibility and negative epistatic loci contributing to type 2 diabetes and related phenotypes in a KK/Ta mouse model. *Diabetes* 2001; 50 (8): 1943-8.
34. Ziv E, Shafir E, Kalman R, Galer S, Bar-On H. Changing pattern of prevalence of insulin resistance in Psammomys obesus, a model of nutritionally induced type 2 diabetes. *Metabolism* 1999; 48 (12): 1549-54.
35. Marquie G, Hadjiisky P, Arnaud O, Duhault J. Development of macroangiopathy in sand rats (*Psammomys obesus*), an animal model of non-insulin-dependent diabetes mellitus: effect of gliclazide. *Am J Med* 1991; 90 (6A): 55S-61S.
36. Cerasi E, Kaiser N, Gross DJ. From sand rats to diabetic patients: is non-insulin-dependent diabetes mellitus a disease of the beta cell? *Diabetes Metab* 1997; 23 (Supl. 2): 47-51.
37. Heled Y, Shapiro Y, Shani Y, Moran DS, Langzam L, Braiman L y cols. Physical exercise prevents the development of type 2 diabetes mellitus in *Psammomys obesus*. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 282 (2): E370-5.
38. Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saitoh Y, Kurosumi M, Natori T. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. *Diabetes* 1992; 41 (11): 1422-8.
39. Schwartz GJ, Whitney A, Skoglund C, Castonguay TW, Moran TH. Decreased responsiveness to dietary fat in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats lacking CCK-A receptors. *Am J Physiol* 1999; 277 (4 Pt 2): R1144-51.
40. Bi S, Moran TH. Actions of CCK in the controls of food intake and body weight: lessons from the CCK-A receptor deficient OLETF rat. *Neuropeptides* 2002; 36 (2-3): 171-81.
41. Shima K, Shi K, Mizuno A, Sano T, Ishida K, Noma Y. Exercise training has a long-lasting effect on prevention of non-insulin-dependent diabetes mellitus in Otsuka-Long-Evans-Tokushima Fatty rats. *Metabolism* 1996; 45 (4): 475-80.
42. Ishida K, Mizuno A, Sano T, Noma Y, Shima K. Effect of timely insulin administration on pancreatic B-cells of Otsuka-Long-Evans-Tokushima-Fatty (OLETF) strain rats. An animal model of non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Horm Metab Res* 1995; 27 (9): 398-402.
43. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ y cols. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 1996; 84 (3): 491-5.
44. Sharma K, McCue P, Dunn SR. Diabetic kidney disease in the db/db mouse. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284 (6): F1138-44.
45. Like AA, Lavine RL, Poffenbarger PL, Chick WL. Studies in the diabetic mutant mouse. VI. Evolution of glomerular lesions and associated proteinuria. *Am J Pathol* 1972; 66 (2): 193-224.
46. Chua SC, Jr., Chung WK, Wu-Peng XS, Zhang Y, Liu SM, Tartaglia L y cols. Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science* 1996; 271 (5251): 994-6.
47. Miltenberger RJ, Mynatt RL, Wilkinson JE, Woychik RP. The role of the agouti gene in the yellow obese syndrome. *J Nutr* 1997; 127 (9): 1902S-1907S.
48. Wilson BD, Ollmann MM, Kang L, Stoffel M, Bell GI, Barsh GS. Structure and function of ASP, the human homolog of the mouse agouti gene. *Hum Mol Genet* 1995; 4 (2): 223-30.
49. Mynatt RL, Miltenberger RJ, Klebig ML, Zemel MB, Wilkinson JE, Wilkinson WO y cols. Combined effects of insulin treatment and adipose tissue-specific agouti expression on the development of obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94 (3): 919-22.
50. Zucker LM, Zucker TF. Fatty, a new mutation in the rat. *J. Hered.* 1961; 52: 275-278.
51. Griffen SC, Wang J, German MS. A genetic defect in beta-cell gene expression segregates independently from the fa locus in the ZDF rat. *Diabetes* 2001; 50 (1): 63-8.
52. Muller S, Cleary MP. Glucose metabolism in isolated adipocytes from ad Libitum- and restricted-fed lean and obese Zucker rats at two different ages. *Proc Soc Exp Biol Med* 1988; 187 (4): 398-407.
53. Lash JM, Sherman WM, Hamlin RL. Capillary basement membrane thickness and capillary density in sedentary and trained obese Zucker rats. *Diabetes* 1989; 38 (7): 854-60.
54. Terrettaz J, Assimacopoulos-Jeannet F, Jeanrenaud B. Severe hepatic and peripheral insulin resistance as evidenced by euglycemic clamps in genetically obese fa/fa rats. *Endocrinology* 1986; 118 (2): 674-8.
55. Stojanovska L, Rosella G, Proietto J. Evolution of dexamethasone-induced insulin resistance in rats. *Am J Physiol* 1990; 258 (5 Pt 1): E748-56.
56. Zhao G, Zhang X, Smith CJ, Xu X, Ochoa M, Greenhouse D y cols. Reduced coronary NO production in conscious dogs after the development of alloxan-induced diabetes. *Am J Physiol* 1999; 277 (1 Pt 2): H268-78.
57. Bono VH, Jr. Review of mechanism of action studies of the nitrosoureas. *Cancer Treat Rep* 1976; 60 (6): 699-702.
58. Wang Z, Gleichmann H. GLUT2 in pancreatic islets: crucial target molecule in diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin in mice. *Diabetes* 1998; 47 (1): 50-6.
59. Zahner D, Malaisse WJ. Kinetic behaviour of liver glucokinase in diabetes. I. Alteration in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetes Res* 1990; 14 (3): 101-8.
60. Bolzan AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. *Mutat Res* 2002; 512 (2-3): 121-34.
61. Yang Z, Chen M, Fialkow LB, Ellett JD, Wu R, Nadler JL. The novel anti-inflammatory compound, lisofylline, prevents diabetes in multiple low-dose streptozotocin-treated mice. *Pancreas* 2003; 26 (4): e99-104.
62. Mensah-Brown EP, Stosic Grujicic S, Maksimovic D, Jasima A, Shahin A, Lukic ML. Downregulation of apoptosis in the target tissue prevents low-dose streptozotocin-induced autoimmune diabetes. *Mol Immunol* 2002; 38 (12-13): 941-6.
63. Muller A, Schott-Ohly P, Dohle C, Gleichmann H. Differential regulation of Th1-type and Th2-type cytokine profiles in pancreatic islets of C57BL/6 and BALB/c mice by multiple low doses of streptozotocin. *Immunobiology* 2002; 205 (1): 35-50.
64. Holstad M, Sandler S. A transcriptional inhibitor of TNF-alpha prevents diabetes induced by multiple low-dose streptozotocin injections in mice. *J Autoimmun* 2001; 16 (4): 441-7.
65. Reddy S, Wu D, Elliott RB. Low dose streptozotocin causes diabetes in severe combined immunodeficient (SCID) mice without immune cell infiltration of the pancreatic islets. *Autoimmunity* 1995; 20 (2): 83-92.
66. Portha B, Blondel O, Serradas P, McEvoy R, Giroix MH, Kergoat M, y cols. The rat models of non-insulin dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin. *Diabetes Metab* 1989; 15 (2): 61-75.
67. García C, Arias-Díaz J, Villa N, Trueba V, Balibrea JL, Vara E. Islets from neonatally streptozotocin treated rats display an increased in vitro sensitivity to tumour necrosis factor. *Diabetologia* 1994; 37 (Supl. 1): A96.
68. Plum L, Wunderlich FT, Baudler S, Krone W, Bruning JC. Transgenic and knockout mice in diabetes research: novel insights into pathophysiology, limitations, and perspectives. *Physiology (Bethesda, Md)* 2005; 20: 152-61.
69. Tamemoto H, Kadowaki T, Tobe K, Yagi T, Sakura H, Hatakawa T y cols. Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature* 1994; 372 (6502): 182-6.
70. Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, Burks DJ, Ren JM, Previs S y cols. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature* 1998; 391 (6670): 900-4.

Revisión

Modelos experimentales de enfermedad cardiovascular

A. Gil Hernández, M.^a C. Ramírez Tortosa, M.^a C. Aguilera García y M.^a D. Mesa García

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos.
Universidad de Granada. España.*

Resumen

El presente trabajo describe los modelos experimentales de utilidad clínica en el estudio de las enfermedades cardiovasculares y hace énfasis en los modelos usados para determinar los mecanismos fisiopatológicos de la aterosclerosis, así como para evaluar los efectos de productos nutricionales y farmacológicos sobre el desarrollo de este proceso inflamatorio complejo común a muchas enfermedades cardiovasculares. Se revisan los modelos animales en los que se puede inducir aterosclerosis por cambios en la composición de la dieta y los modelos animales en los que la alteración de uno o más genes (animales *knock-out* y *knock-in*), o la incorporación de genes foráneos de otras especies, da lugar a la aparición de hiperlipidemia con riesgo asociado de aparición de enfermedad cardiovascular temprana. Por otra parte, se consideran algunas de las líneas celulares más utilizadas en el estudio de los mecanismos moleculares de la aterogénesis y de evaluación de sustancias con interés nutricional o farmacológico.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:169-77)

Palabras clave: *Animales transgénicos. Aterosclerosis. Enfermedad cardiovascular. Modelos animales. Líneas celulares.*

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) suponen la primera causa de mortalidad y morbilidad en los países desarrollados y su incidencia aumenta progresivamente en los países en vías de desarrollo. Un gran número de enfermedades cardiovasculares, tales como la angina de pecho, el infarto de miocardio, la hiperten-

EXPERIMENTAL MODELS OF CARDIOVASCULAR DISEASE

Abstract

The present work describes clinically useful experimental models for the study of cardiovascular disease and emphasizes the models used to determine the pathophysiologic mechanisms of atherosclerosis, as well as to evaluate the effects of nutritional and pharmacological products on the development of this complex inflammatory process present in many cardiovascular diseases. Animal models in which atherosclerosis may be induced by dietary changes are reviewed, as well as those in which modification in one or more genes (*knock-out* and *knock-in* animals), or the incorporation of foreign genes from other species lead to early cardiovascular disease. On the other hand, some of the cell lines most frequently used in studying molecular mechanisms of atherosclerosis and assessment of substances with nutritional or pharmacological interest are considered.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:169-77)

Key words: *Transgenic animals transgénicos. Atherosclerosis. Cardiovascular disease. Animal models. Cellular lines.*

sión arterial y la enfermedad vascular periférica tienen su origen en la aparición de aterosclerosis. Este término se aplica a diversos tipos de procesos inflamatorios que producen una lesión proliferativa de las capas íntima y media arterial tras la formación de capas fibroadiposas, que terminan por invadir la luz de las arterias y, en combinación con procesos trombóticos, comprometen la funcionalidad circulatoria de estos vasos. La aterosclerosis se caracteriza por la existencia de placas fibroadiposas elevadas en la íntima arterial (ateromas) especialmente en la aorta, coronarias y arterias cerebrales, que producen estenosis (estrechamiento de la luz del vaso).

Existen numerosos modelos experimentales de aterosclerosis que utilizan animales a los que se les induce la enfermedad mediante la ingesta de dietas con composición alterada, especialmente de los lípidos¹⁻³.

Correspondencia: Ángel Gil Hernández
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II
Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos
Ramón y Cajal, 4
18071 Granada
E-mail: agil@ugr.es

Recibido: 2-XI-2006.
Aceptado: 9-XI-2006.

Asimismo, se han desarrollado animales modificados genéticamente por alteración de uno o más genes, o por transgénesis de genes alterados de la especie humana que dan lugar a la aparición de hiperlipidemias y que finalmente conducen a la aparición de ECV⁴⁻⁵ (tabla I). Finalmente, existen varios modelos celulares utilizados en el estudio de la ECV, especialmente para evaluar los efectos de agentes pro- y antiaterogénicos, así como de los mecanismos moleculares por los cuales estos agentes ejercen dichos efectos⁶⁻⁹.

El objetivo del presente trabajo es ofrecer una panorámica general de los diferentes modelos utilizados para el estudio de la aterosclerosis y de la ECV de utilidad clínica, especialmente en el campo de la nutrición.

Modelos animales

Son muchos los animales de laboratorio que se han utilizado para estudiar los mecanismos implicados en el desarrollo de la aterosclerosis. Entre ellos podemos citar el mono¹⁰, el cerdo¹¹⁻¹², el hamster, el conejo y el pollo¹³⁻¹⁴ y muy recientemente el conejillo de Indias¹⁵. De todos ellos, son los dos primeros los que generan lesiones patológicas en las arterias elásticas (aorta, carótida e ilíacas) similares a las humanas, en donde es frecuente el desarrollo de engrosamientos intinales adaptativos, difusos y excéntricos, como consecuencia del estrés mecánico y físico del flujo sanguíneo sobre las paredes arteriales, principalmente en las zonas de bifurcación o salida de ramas secundarias. Sin embargo, el gran problema para los laboratorios es su coste

y el no disponer de la infraestructura necesaria para el mantenimiento de dichos animales al alcance de los grupos de investigación. Por ello, hoy día el modelo experimental de aterosclerosis más extendido es el conejo¹⁶. La tabla I resume los principales modelos animales utilizados para el estudio de las ECV.

En general, uno de los problemas principales es que en la mayoría de los modelos, excepto el mono, el cerdo y el conejo de Indias, en la distribución y composición de las lipoproteínas son muy diferentes a las de la especie humana. La figura 1 representa los porcentajes de distribución de colesterol en las lipoproteínas plasmáticas de humanos y de distintas especies animales utilizadas para el estudio de las ECV.

El primer estudio sobre aterosclerosis realizado con conejos data de 1908¹⁷. En dicho estudio las lesiones ateromatosas fueron inducidas por la dieta. Debido a que el conejo es muy sensible a la inducción de las lesiones ateromatosas mediante una dieta rica en colesterol, este es el modelo más extendido en la literatura para estudiar la aterosclerosis. Diferentes cantidades de colesterol en la dieta, combinadas o no con distintas grasas comestibles, así como distintos tiempos de duración, han sido y son utilizados para provocar diferentes tipos de lesiones ateromatosas. Existen estudios donde el periodo de intervención varía según la cantidad de colesterol administrada a los conejos, por ejemplo; Zulli y cols.¹⁸ desarrollaron placas de atero- ma con 0,5% de colesterol durante 12 semanas; Pfister¹⁹ durante 3 semanas con la misma cantidad de colesterol; Zhang y cols.²⁰ provocaron aterosclerosis con 1% de colesterol durante 12 semanas; Ozer y cols.²¹ con 2% de colesterol durante 4 semanas; y Shakuto y cols.²² con un 1% de colesterol durante 10 semanas. Existen otros estudios, entre los que se incluyen los realizados por nuestro equipo de investigación, en los que se combina el tiempo de tratamiento, la ingesta de colesterol y grasa saturada. Así, Juzwłak y cols.²³ han desarrollado aterosclerosis en conejos mezclando 0,5 g/kg de grasa saturada más 0,5 g/kg de colesterol durante 12 semanas. Nuestro equipo de investigación provoca la aparición y desarrollo de estría grasa en conejos con la ingesta de colesterol al 1,5% junto a grasa

Tabla I
Principales modelos animales utilizados para el estudio de la aterosclerosis

- **Aterosclerosis inducida por la dieta**
No modificados genéticamente
Ingesta elevada de colesterol y grasa saturada: conejo, hamster, pollo, cerdo, mono
Modificados genéticamente
 - Conejos New Zealand que expresan Apo A-1, sobreexpresión de lecitín-colesterol-acil-transferasa, lipasa hepática humana, o Apo B-100 humana
 - Conejos WHHL que expresan Lp(a) humana
- **Transgénicos *knock-out* y *knock in***
Ratones C57BL/6
apoE *knock-out* (apoE^{-/-})
knockout para el receptor LDL (LDL^{-/-})
ratones doble *knock-out* apoE y LDL-R
knock-in que expresan la apoE2 humana, apoE2k o apoE3-Leiden
- **Cepas murinas con defectos en la función plaquetaria**
- **Cepas murinas y pollos con mutaciones en los transportadores A1 dependientes de unión a ATP**
ABCA1 —ATP-binding cassette transporter A1—.

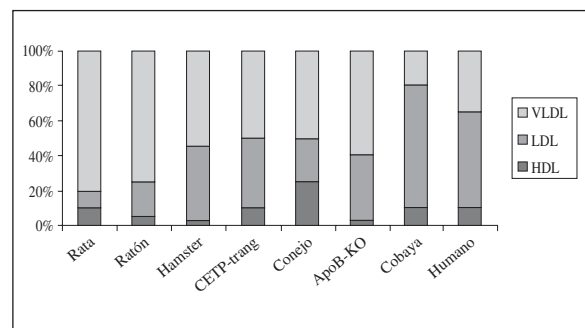


Fig. 1.—Distribución de colesterol en las lipoproteínas de varios modelos animales y del humano. Modificado de Fernández y Volek (2006)¹⁵.

saturada al 3% (manteca de cerdo) durante 4 semanas, y placas de ateroma a las 8 semanas²⁴⁻²⁶. El desarrollo de ateromatosis en las aortas de los conejos es tiempo dependiente. Así, en los primeros 10 d, sólo se observaron depósitos mínimos de macrófagos cargados de lípidos en la íntima del cayado (aorta torácica ascendente). Estos depósitos se hicieron más abundantes y grandes a los 20 d en la misma porción de la aorta, empezando a aparecer nuevos acúmulos en la aorta torácica descendente y abdominal, pero no de forma tan intensa. A los 30 d, los conejos desarrollaron una ateromatosis marcada, representada principalmente por depósitos de macrófagos en la íntima (estría grasa) a lo largo de todo el trayecto de la aorta²⁴⁻²⁶ (fig. 2). En cuanto al desarrollo de verdadera placa fibroateromatosa, ésta se apreció en todas las fracciones correspondientes a cayado, aorta torácica y aorta abdominal cuando la ingesta de colesterol y grasa saturada se mantuvo hasta los 50 días^{1,27-28} (fig. 3).

Otra forma de inducir la aterosclerosis, distinta de la administración en la dieta con diferentes tipos de grasa, es mediante la producción de un daño mecánico a nivel intraluminal en la arteria, lo que da lugar a una respuesta proliferativa a nivel endotelial que está de acuerdo con la patofisiología del proceso aterosclerótico^{3,29-30}.

Finalmente, hay que destacar el uso actual de modelos de conejos modificados genéticamente para estudiar mecanismos moleculares implicados en la patogénesis de la enfermedad inducida por la dieta. Entre los relacionados con la aterosclerosis encontramos la cepa de conejo New Zealand que expresa apo A-1 humana, otros modelos que sobreexpresan la lecitín-colesterol-acil transferasa, la lipasa hepática, o la apo B-100 humanas, o bien la cepa de conejos WHHL que expresan la Lp(a) humana consiguiendo lesiones ateromatosas muy avanzadas y similares a las de los humanos^{16,31} (tabla I).

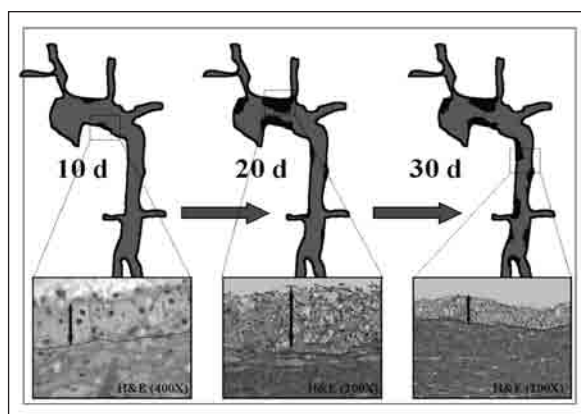


Fig. 2.—Inducción de estrías grasas y placas de ateroma en aorta de conejos alimentados con una dieta rica en colesterol (1,5%) y manteca de cerdo (3%) durante 10, 20 y 30 días. Nótese el incremento progresivo, en número y tamaño de los depósitos, en las diferentes partes de la aorta en relación con el tiempo (Hematoxilina-eosina, x200). Las flechas definen el grosor de la placa. Tomado de Aguilera y cols. (2002)²⁸.

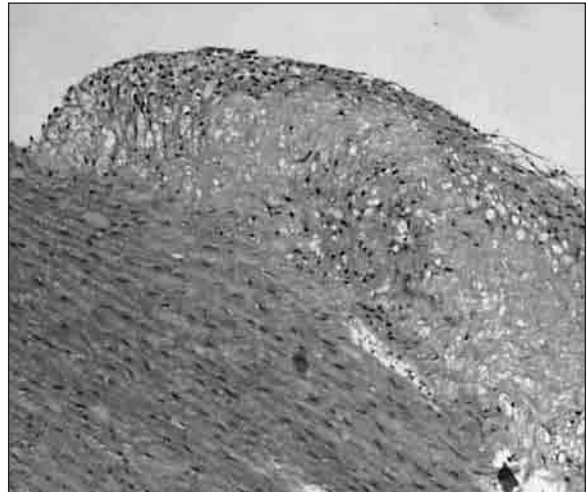


Fig. 3.—Desarrollo de placa fibrosa en aortas de conejos ateroescleróticos. (hematoxilina-eosina, x100). Tomado de Aguilera y cols. (2002)²⁸.

Las dietas con restricción de hidratos de carbono conducen a la reducción de triglicéridos (TG), aumentan la fracción de colesterol asociado a las lipoproteínas de elevada densidad (HDL-colesterol) y promueven la formación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) más grandes y menos aterogénicas en la especie humana. Sin embargo, los mecanismos que subyacen a este tratamiento no han sido explorados debido a la falta de un modelo apropiado. Recientemente, se ha indicado que el conejo de Indias puede ser un modelo adecuado para el estudio de los fenómenos de aterogénesis y de la reducción de TG con dietas con bajo contenido en hidratos de carbono, ya que en estos animales, como ocurre en el hombre, la mayor parte del colesterol está asociado a las LDL, y tienen proteína de transferencia de ésteres de colesterol y lipoproteína lipasa¹⁵.

Animales modificados genéticamente

Actualmente existen una serie de modelos animales que desarrollan aterosclerosis y enfermedad cardiovascular por alteración de uno o más genes (tablas I y II).

En los animales denominados *knock-out* se ha alterado un gen de interés. Para ello se transfiere el gen mutado a un cultivo de células madre y luego algunas de estas células se inoculan a blastocitos que son trasplantados a hembras huésped. En los animales denominados *knock-in* se reemplaza un gen por otro y se evalúan los efectos funcionales que esta manipulación genética causa. En los animales denominados *transgénicos* se inserta un segmento de ADN de una especie exógena, mediante la inyección del ácido nucleico exógeno en el pronúcleo de una célula embrionaria. El embrión es trasplantado a una hembra huésped y el animal que se desarrolla a partir de ese embrión es un transgénico.

Tabla II
Características de ratones transgénicos que expresan niveles y formas mutadas diferentes de ApoE

Modificación genética	Promotor	Dieta Chow	Dieta HGC				
		apoE (mg/dl)	Col	TG	Col	TG	
C57B16 (control)	n.d.	100% (5 mg/dl)	2,1	0,5	15/1,0/0,5	5,7	0,1
Gen diana							
ApoE <i>knock-out</i> (heterozigoto)	n.d.	50%	3,1	0,3	15/1.0/0.5	10,1	n.d.
ApoE <i>knock-out</i>	n.d.	0%	19	0,4	15/1,0/0,5	102	n.d.
ApoE3 <i>knock-in</i> humana	ApoE raton	1,3	4,4	0,84	16/1,25/0,05	9,0	0,3
Ratones transgénicos							
ApoE rata	Metalotioneina	17	1,4	0,2	5/1,0/0,5	2,4	n.d.
ApoE2 humana	Endógeno	0,9	2,1	0,6	15/1,0/0,5	6,8	0,1
ApoE2 humana	Endógeno	9,2	16,5	2,4	–	n.d.	n.d.
ApoE <i>knock-out</i>							
ApoE2 humana	Endógeno	53	3,9	0,5	–	n.d.	n.d.
ApoE2 humana	ApoA1	23	2,1	0,8	15/1,0/0,5	5,5	0,4
ApoE2 (142)	Endógeno	70	7,9	4,3	16/1,0/0,5	12,6	1,3
ApoE3 Leiden	Endógeno	2,7	2,7	0,8	15/1,0/0,5	13,7	0,2
ApoE3 Leiden	Endógeno	36	3,2	2,7	15/1,0/0,5	40	16
ApoC1							

Col: Colesterol; HGC: Hidratos de carbono / Grasa / Colato; nd: no disponible; TG: Triglicéridos.

Los ratones C57BL/6 son los más susceptibles de desarrollar aterosclerosis y es, por tanto, la variedad de elección para ser genéticamente manipulada con el fin de desarrollar modelos de aterosclerosis. Los ratones *apoE knock-out* (*apoE*^{-/-}) en los que se ha delecionado el gen que codifica para la apolipoproteína E, constituyente fundamental de diversos tipos de lipoproteínas, desarrollan hiperlipidemia y aterosclerosis tanto con dieta normal como con dieta rica en grasa, aunque la severidad del fenotipo depende de la variedad de ratón utilizada⁴. Éste ha sido el modelo de aterosclerosis más estudiado y mejor caracterizado; se usa frecuentemente como base para el estudio del papel de otros genes en el desarrollo de la aterosclerosis por manipulaciones genéticas adicionales. Desafortunadamente, los ratones *apoE*^{-/-} no son un modelo fidedigno de la aterosclerosis humana, ya que el perfil de lipoproteínas en estos ratones difiere significativamente del de los pacientes humanos y la ausencia de *apoE* es una condición muy rara en la especie humana⁵ (tabla II).

Otro modelo de aterosclerosis es el ratón *knock-out* para el receptor LDL (*LDL*^{-/-}). La deficiencia de estos receptores provoca una hipercolesterolemia menos severa que en el caso de los ratones *knock-out* para la *apoE*, pero una dieta rica en grasa provoca el desarrollo de hipercolesterolemia y aterosclerosis. Este tipo de animales es particularmente susceptible a la dieta,

ya que pequeños cambios en su composición son suficientes para modificar el fenotipo aterosclerótico. Otra ventaja de este modelo es que la deficiencia del receptor de LDL es un fenotipo encontrado en los humanos con cierta frecuencia⁵.

En la última década se ha desarrollado un nuevo modelo de ratones doble *knock-out* *apoE* y *LDL-R*, que desarrollan una hiperlipidemia más severa y una aterosclerosis mayor que el modelo deficiente solo en *apoE*, en este caso también acelerado por una dieta rica en grasa³³.

Otro tipo de modelo murino de aterosclerosis está basado en un método de reemplazamiento génico conocido como *knock-in* en el que en lugar de eliminar, un gen determinado este, es reemplazado por una variante del gen en la misma localización del genoma. Los ratones *knock-in* que expresan la *apoE2* humana muestran un perfil plasmático lipoproteico similar al de los sujetos hiperlipidémicos tipo III, que tienen un menor aclaramiento de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y por tanto desarrollan aterosclerosis a pesar de una dieta normal³⁴.

Además de los modelos *knock-out* o de eliminación dirigida de un gen concreto, hay un gran número de modelos transgénicos. La mayoría de los modelos transgénicos para la aterosclerosis consisten en la introducción del gen humano de la *apoE* o bien de una forma mutada, como es la *apoE2k* o *apoE3-Leiden*³⁵⁻³⁷

(fig. 4). Un gran número de isoformas de apo E han sido expresadas en ratones para estudiar la influencia de las mismas sobre el desarrollo de aterosclerosis³². Estos modelos tienen un gran potencial ya que responden muy bien tanto a factores dietéticos como a agentes farmacológicos.

Por otra parte, en años recientes, la disponibilidad de cepas murinas con defectos en la función plaquetaria y el desarrollo de modelos *in vivo* para determinar los procesos fisiológicos y patofisiológicos relacionados con la aterosclerosis ha abierto nuevos caminos para identificar el papel individual de las proteínas de las plaquetas en la adhesión, activación, agregación, secreción y actividad procoagulante³⁸.

Las mutaciones en los transportadores A1 dependientes de unión a ATP (ABCA1 -*ATP-binding cassette transporter A1*-) dan lugar a la aparición de la enfermedad de Tangier en la que se acumulan ésteres de colesterol en los tejidos y los niveles plasmáticos de HDL están muy bajos, lo cual aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular. Estos transportadores desempeñan un papel crucial en el tráfico celular de fosfolípidos y de colesterol. Recientemente se han desarrollado modelos *knock-out* para este transportador tanto en ratones como en pollos que desarrollan la sintomatología de la enfermedad de Tangier. Asimismo, se han obtenido animales transgénicos con el gen humano normal que restauran el metabolismo del colesterol en dichos mutantes³⁹.

En cualquier caso, después de una década de desarrollo de modelos animales con alteraciones génicas, está claro que cada uno de ellos tiene sus fortalezas y sus debilidades, particularmente cuando se evalúan los efectos de la nutrición y de los fármacos hipolipemiantes.

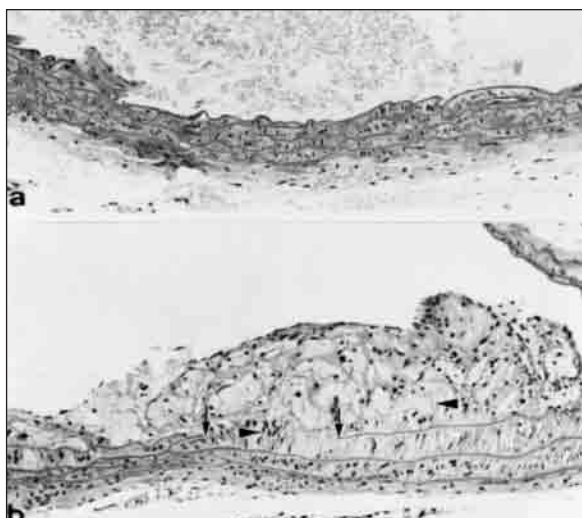


Fig. 4.—Aterosclerosis en ratones con ApoE de Leiden. A: Control; b: Experimental Tomado de Wouters y cols. (2005)³⁶.

Modelos celulares

En el desarrollo de la aterosclerosis participan numerosos tipos celulares entre los que se encuentran macrófagos, células del endotelio vascular, linfocitos, células del músculo liso, así como de las plaquetas. Utilizando líneas inmortalizadas de estas células de forma independiente o en co-cultivo se pueden evaluar muchas de las alteraciones que ocurren durante el desarrollo de la placa de ateroma, especialmente de los acontecimientos que ocurren a nivel celular y molecular, cuando se exponen a diferentes agentes tóxicos. Asimismo, una vez inducido el daño celular se puede evaluar la influencia de diferentes agentes farmacológicos o dietéticos, por ejemplo antioxidantes, sobre la aparición de marcadores moleculares de daño celular asociados a la aterosclerosis. En la tabla III se resumen las características principales de las líneas celulares más utilizadas para el estudio de los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de las ECV.

La línea celular THP-1 procede de un paciente con leucemia monocítica aguda. Estas células expresan marcadores característicos de los monocitos y poseen receptores Fc y C3b, sin embargo, no expresan inmunoglobulinas de superficie o citoplasmáticas. Están caracterizadas por su capacidad fagocítica y por la producción de lisozimas y esterasa, además de por su capacidad para restaurar la respuesta de los linfocitos T a la concavalina A⁴⁰. Al tratar las THP-1 con 12-miristato, 13-acetato de forbol (PMA) se observa adherencia a las superficies de cristal, a la vez que exhiben características morfológicas similares a los macrófagos⁴¹. Además, poseen la capacidad de acumular lípidos, procedentes de las LDL, en su interior, y de expresar en su superficie el receptor para las LDL acetiladas, la apolipoproteína E y la lipoproteína lipasa⁴², así como el receptor para las VLDL⁴³, todos ellos considerados marcadores diferenciadores de los macrófagos. Por estos motivos, estas células activadas con PMA han sido ampliamente utilizadas para el estudio *in vitro* de la formación de células espumosas y de la aterosclerosis⁷.

Sin embargo, existen diferencias fundamentales entre las células monocíticas y las THP-1. En primer lugar, los monocitos humanos sufren apoptosis cuando no son estimulados por determinadas citoquinas, mientras que las THP-1 crecen indefinidamente. En segundo lugar, existe una heterogeneidad celular en cuanto a la expresión de algunos receptores. Incluso, se ha observado que pueden perder la diferenciación cuando se cultivan por un tiempo excesivo, hecho que no les ocurre a los macrófagos. Por otro lado, se ha observado que tras su activación, las THP-1 segregan factor de crecimiento transformante β (TGF)- β 1, que inhibe la actividad de los receptores scavenger para las LDL acetiladas⁴⁴. Además, en las células activadas tampoco se observa la expresión del receptor hepático característico de los macrófagos⁷. Concretamente, se ha caracterizado el perfil de expresión genética de es-

Tabla III
Principales modelos celulares utilizados para el estudio de las ECV

Macrófagos

Línea celular THP-1

- Expresan marcadores característicos de los monocitos y poseen receptores Fc y C3bN.
- No expresan inmunoglobulinas de superficie o citoplasmáticas.
- Tienen capacidad fagocítica y producen lisozimas y esterasa.
- Restauran la respuesta de los linfocitos T a la concavalina A.

Al tratar las THP-1 con 12-miristato, 13-acetato de forbol (PMA):

- Se observa adherencia a las superficies de cristal, a la vez que exhiben características morfológicas similares a los macrófagos.
- Acumulan lípidos procedentes de las LDL, en su interior, y expresan en su superficie el receptores diferenciadores de los macrófagos.

Cocultivo de THP-1 con células del músculo liso (SMC) y células aórticas endoteliales

Es adecuado para el estudio de los mecanismos moleculares y celulares implicados en la formación de células espumosas durante los primeros estadios de la aterosclerosis.

Línea celular U937

- Capacidad para producir lisozimas y elevada actividad esterasa.
- Expresan receptores para las LDL en cantidad relativamente elevada, y para las LDL acetiladas en menor cantidad.
- Poseen varios antígenos de superficie comunes con los monocitos sanguíneos, como por ejemplo el antígeno OKM1, 4F2 y T4.

La estimulación de las U937 con metabolitos segregados por linfocitos T tratados con concavalina A, provoca:

- Incremento de OKM1 y de la actividad del receptor Fc y disminuye la expresión del antígeno T4, hecho característico de la maduración fenotípica de las células.

Células endoteliales.

Células del músculo liso.

tas células, comparándolo con el de los monocitos y macrófagos y se ha demostrado que los monocitos son bastante diferentes a las células THP-1 no estimuladas. Sin embargo, al comparar con los macrófagos, las THP-1 activadas con PMA comparten la expresión de algunos, aunque no todos, genes característicos⁷. Todos estos datos sugieren que, aunque el uso de esta línea celular es adecuado para el estudio *in vitro* de los mecanismos moleculares de las enfermedades cardiovasculares, requieren una rigurosa interpretación de los resultados.

Los cultivos celulares con THP-1 han sido ampliamente utilizados para el estudio de múltiples mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de la aterosclerosis. Entre ellos, se ha estudiado receptores de membrana para distintas partículas como las HDL⁴⁵, procesos de activación e inhibición de proliferación celular⁴⁶, la expresión de metaloproteasas y de algunas moléculas que pueden modular su expresión y/o actividad⁸, el metabolismo de moléculas de adhesión y citoquinas, así como los mecanismos nucleares activados a través de las LDL oxidadas durante el desarrollo de la aterosclerosis⁶.

Por otro lado, existen varios estudios en los que se cultivan conjuntamente varios tipos de células carac-

terísticas de las lesiones ateroscleróticas, con el fin de estudiar los mecanismos moleculares de sus interacciones durante la formación de la placa de ateroma. Takaku y cols.⁴⁷ demostraron que el cocultivo de THP-1 con células del músculo liso (SMC) y células aórticas endoteliales es adecuado para el estudio de los mecanismos moleculares y celulares implicados en la formación de células espumosas durante los primeros estadios de la aterosclerosis. Incluso se ha estudiado el efecto de mediadores producidos por células mononucleares aisladas de sangre periférica sobre la producción del receptor CD36 en THP-1⁶.

La línea celular U937 procede de un linfoma histiocítico difuso de un humano caucasiano; las células de tipo histiocítico exhiben características semejantes a los monocitos. Las U937 se caracterizan por su capacidad para producir lisozimas y por su gran actividad esterasa⁴⁸. Estas células expresan receptores para las LDL en cantidad relativamente elevada, y para las LDL acetiladas en menor cantidad⁴⁹. Además, poseen varios antígenos de superficie comunes con los monocitos sanguíneos, como por ejemplo el antígeno OKM1, 4F2 y T4⁵⁰. La estimulación de las U937 con metabolitos segregados por linfocitos T tratados con concavalina A, provoca un incremento de OKM1 y de

la actividad del receptor Fc, a la vez que disminuye la expresión del antígeno T4, hecho característico de la maduración fenotípica de las células monocíticas⁵⁰. La diferenciación de estas células provoca cambios morfológicos y funcionales bastante marcados, incrementando la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos frente a las células tumorales. Al igual que los macrófagos, una vez diferenciada, esta línea celular tiene capacidad para reconocer y captar LDL nativas o acetiladas⁵¹. La diferenciación de U937 con PMA induce la supresión de la transcripción de catepsina G y colágeno, mientras que incrementa la segregación de metaloproteasas, hechos característicos de las células monocíticas⁵², mecanismos que todavía están siendo estudiados⁵³. Sin embargo, las U937 activadas no son capaces de expresar los antígenos HLA-DR que sí son inducidos en los macrófagos⁵⁴. Recientemente se han descrito algunos factores de transcripción implicados en los procesos de proliferación, apoptosis, ubiquitinación e integridad estructural, junto con otros factores implicados en la respuesta inflamatoria y del sistema inmune, lo que proporciona información clave para el estudio de los mecanismos patofisiológicos de la aterosclerosis⁵⁵.

Muchos son los trabajos con este tipo de células que han contribuido a un mayor conocimiento de las enfermedades cardiovasculares. Respecto a los procesos de maduración de los monocitos, las U937 se han utilizado para la determinación de mecanismos implicados en la modulación de procesos de activación y migración, como por ejemplo la hemoxigenasa 1 que podría constituir un novedoso mecanismo antiaterogénico⁵⁶. En relación a las implicaciones de las LDL en la formación de la placa de ateroma, las U937 se han utilizado para el estudio de los mecanismos de oxidación mediados por células⁵⁷, de captación de los lípidos sanguíneos y de expresión de receptores característicos de estos procesos⁵⁸. Existen trabajos con U937 que han descrito algunos mecanismos de formación de células espumosas⁵⁹ y la liberación de moléculas una vez que estas células están cargadas de grasa y transformadas⁶⁰. Cabe destacar que los trabajos con U937 contribuyeron a determinar el papel fundamental de los procesos inflamatorios, como la liberación de citoquinas proinflamatorias, en el desarrollo de la aterosclerosis⁶¹.

Por otro lado, esta línea celular se ha empleado en cocultivos con células endoteliales, evidenciando la mayor adherencia de las células monocíticas en presencia de LDL⁶², así como algunos mecanismos anti-aterogénicos relacionados con la prevención de estos procesos. Entre éstos encontramos trabajos recientes que muestran un posible mecanismo preventivo de las HDL a través de la lipasa endotelial y los activadores nucleares PPAR γ (*Peroxisome proliferator-activated receptor*).

La aterosclerosis tiene lugar preferentemente en áreas de flujo sanguíneo turbulento, mientras que el flujo laminar se comporta como ateroprotector. La citoquinas proinflamatorias, tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), estimulan la expresión

de varios genes que pueden promover la aterosclerosis en las células endoteliales. Para estudiar los efectos del flujo y de las citoquinas proinflamatorias, así como de agentes nutricionales de carácter antiinflamatorio, se utilizan con ventaja las células humanas de cordón umbilical, denominadas HUVEC^{63,64}.

Referencias

1. Aguilera MC, Ramírez-Tortosa CL, Quiles JL, Yago MD, Martínez-Burgos MD, Martínez-Victoria E, Gil A, Ramírez-Tortosa MC. Monounsaturated and n-3 but not n-6 polyunsaturated fatty acids improve hepatic fibrosis in hypercholesterolemic rabbits. *Nutrition* 2005; 21: 363-371.
2. McMahon AC, Kritharides L, Lowe HC. Animal models of atherosclerosis progression: current concepts. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 2005; 5: 433-440.
3. Wu X, Wang J, Fan J, Chen M, Chen L, Huang W, Liu G. Localized vessel expression of lipoprotein lipase in rabbits leads to rapid lipid deposition in the balloon-injured arterial wall. *Atherosclerosis* 2006; 187: 65-73.
4. Zhang SH, Reddick RL, Piedrahita JA, Maeda N. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. *Science* 1992; 258: 468-471.
5. Fazio S, Linton MF. Mouse models of hyperlipidemia and atherosclerosis. *Front Biosci* 2001; 6: D515-525.
6. Kavanagh IC, Symes CE, Renaudin P, Nova E, Mesa MD, Boukourvalas G, Leake DS, Yaqoob P. Degree of oxidation of low density lipoprotein affects expression of CD36 and PPARgamma, but not cytokine production, by human monocyte-macrophages. *Atherosclerosis* 2003; 168: 271-282.
7. Kohro T, Tanaka T, Murakami T, Wada Y, Aburatani H, Hamakubo T, Kodama T. A comparison of differences in the gene expression profiles of phorbol 12-myristate 13-acetate differentiated THP-1 cells and human monocyte-derived macrophage. *J Atheroscler Thromb* 2004; 11: 88-97.
8. Ozaki H, Miyashita Y, Watanabe H, Shirai K. Enhancement of MMP-9 activity in THP-1 cells by 7-ketocholesterol and its suppression by the HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin. *J Atheroscler Thromb* 2005; 12: 308-314.
9. Ahmed W, Orasanu G, Nehra V, Asatryan L, Rader DJ, Ziouzenkova O, Plutzky J. High-density lipoprotein hydrolysis by endothelial lipase activates PPARalpha: a candidate mechanism for high-density lipoprotein-mediated repression of leukocyte adhesion. *Circ Res* 2006; 98: 490-498.
10. Noa M, Mas R. Protective effect of polyicosanol on atherosclerotic plaque on aortas I monkeys. *Arch Med Res* 2005; 36: 441-447.
11. Gambillara V, Chambaz C, Roy S, Stergiopoulos N, Silacci P. Plaque-prone hemodynamic impairs endothelial function in pig carotid arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: 2320-2328.
12. West KL, Fernández ML. Guinea pigs as models to study the hypocholesterolemic effects of drugs. *Cardiovasc Drug Rev* 2004; 22: 55-70.
13. García-Pérez B, Ayala I, Castells MT, Doménech G, Sánchez-Polo MT, García-Partida P, Valdés M. Effects of nifedipine, verapamil and diltiazem on serum biochemical parameters and aortic composition of atherosclerosis chickens. *Biomed Pharmacother* 2005; 59: 1-7.
14. Himmelfarb J. Linking oxidative stress and inflammation in kidney disease: which is the chicken and which is the egg? *Semin Dial* 2004; 17: 449-454.
15. Fernández ML, Volek JS. Guinea pigs: a suitable animal model to study lipoprotein metabolism, atherosclerosis and inflammation. *Nutr Metab (Lond)* 2006; 27: 17 (E on-line).
16. Yanni AE. The laboratory rabbits: an animal model of atherosclerosis research. *Laboratory Animals* 2004; 38: 246-256.
17. Ignatowski AI. Influence of animal food on the organism of rabbits. *ST Petersburg Izvest Imp Voenno-Med Akad* 1908; 16: 154-176.

18. Zulli A, Buxton BF, Black MJ, Hare DL. CD34 Class III positive cells are present in atherosclerotic plaques of the rabbit model of atherosclerosis. *Histochem Cell Biol* 2005; 124: 517-522.
19. Pfister SL. Aortic thromboxane receptor deficiency alters vascular reactivity in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 2006; 1 (in press).
20. Zhang ZS, Jame AE, Huang Y, Ho Wk, Sabota DS, Chen ZY. Quantification and characterization of aortic cholesterol in rabbits fed a high-cholesterol diet. *Int J Food Sci Nutr* 2005; 56: 359-366.
21. Ozer NK, Negis Y, Aytan N, Villacorta L, Ricciaralli R, Zingg JM, Azzi A. Vitamin E inhibits CD36 scavenger receptor expression in hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis* 2006; 184: 15-20.
22. Shakuto S, Oshima K, Tsuchiya E. Glimepiride exhibits prophylactic effect on atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 2005; 182: 209-217.
23. Juzwiak S, Wojcicki J, Mokrzycki K, Marchlewicz M, Bialecka M, Wenda-Rozewicka L, Gawronska-Szklarz B, Drozdziak M. Effect of quercetin on experimental hyperlipidemia and atherosclerosis in rabbits. *Pharmacol Rep* 2005; 57: 604-609.
24. Mesa MD, Aguilera CM, Ramírez-Tortosa CL, Ramírez-Tortosa MC, Quiles JL, Baro L, Martinez de Victoria E, Gil A. Oral administration of a turmeric extract inhibits erythrocyte and liver microsome membrane oxidation in rabbits fed with an atherogenic diet. *Nutrition* 2003; 19: 800-804.
25. Quiles JL, Mesa MD, Ramírez-Tortosa CL, Aguilera CM, Battino M, Gil A, Ramírez-Tortosa MC. Curcuma longa extract supplementation reduces oxidative stress and attenuates aortic fatty streak development in rabbits. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1225-1231.
26. Ramírez-Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, Quiles JL, Baro L, Ramírez-Tortosa CL, Martínez-Victoria E, Gil A. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effect in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999; 147: 371-378.
27. Aguilera CM, Mesa MD, Ramírez-Tortosa MC, Quiles JL, Gil A. Virgin oil and fish oils enhance the hepatic antioxidant defence system in atherosclerotic rabbits. *Clin Nutr* 2003; 22: 379-384.
28. Aguilera CM, Ramírez-Tortosa MC, Mesa MD, Ramírez-Tortosa CL, Gil A. Sunflower, virgin olive and fish oils differentially affect the progression of aortic lesions in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002; 162: 335-344.
29. Worth NF, Berry CL, Thomas AC, Campbell JH. SI8886 a selective TP receptor antagonist, inhibits development of atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 2005; 183: 65-73.
30. Liu Q, Chen ZQ, Bobustuc GC, McNatt JM, Segall H, Pan S, Willerson JT, Zoldhelyi P. Local gene trasduction of cyclooxygenase 1 increases blood flow in injured atherosclerosis rabbit arteries. *Circulation* 2005; 111; 1833-1840.
31. Bosze Z, Hiripi L, Carnwath JW, Niemann H. The transgenic rabbit as model for human diseases and as a source of biologically active recombinant proteins. *Transgenic Research* 2003; 12: 541-553.
32. Sullivan PM, Mezdour H, Aratani Y, Knouff C, Najib J, Reddick RL, Quarfordt SH, Maeda N. Targeted replacement of the mouse apolipoprotein E gene with the common human APOE3 allele enhances diet induced hypercholesterolemia and atherosclerosis. *J Biol Chem* 1997; 272: 17972-17980.
33. Ishibashi S, Herz J, Maeda N, Goldstein JL, Brown MS. The two-receptor model of lipoprotein clearance: tests of the hypothesis in "knock-out" mice lacking the low density lipoprotein receptor, apolipoprotein E, or both proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4431-4435.
34. Sullivan PM, Mezdour H, Quarfordt SH, Maeda N. Type III hyperlipoproteinemia and spontaneous atherosclerosis in mice resulting from gene replacement of mouse Apoe with human Apoe*2. *J Clin Invest* 1998; 102: 130-135.
35. Van den Maagdenberg AM, Hofker MH, Krimpenfort PJ, De Bruijn I, Van Vlijmen B, Van der Boom H, Havekes LM, Frants RR. Transgenic mice carrying the apolipoprotein E3-Leiden gene exhibit hyperlipoproteinemia. *J Biol Chem* 1993; 268: 10540-10545.
36. Wouters K, Shiri-Sverdlov R, Van Gorp PJ, Van Bilsen M, Hofker MH. Understanding hyperlipidemia and atherosclerosis: lessons from genetically modified apoe and ldlr mice. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43:470-479.
37. Hofker MH, Van Vlijmen BJ, Havekes LM. Transgenic mouse models to study the role of APOE in hyperlipidemia and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998; 137: 1-11.
38. Nieswandt B, Aktas B, Moers A, Sachs UJ. Platelets in atherothrombosis: lessons from mouse models. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1725-1736.
39. Srivastava N. ATP binding cassette transporter A1 —key roles in cellular lipid transport and atherosclerosis. *Mol Cell Biochem* 2002; 237: 155-164.
40. Tsuchiya S, Yamabe M, Yamaguchi Y, Kobayashi Y, Konno T, Tada K. Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line (THP-1). *Int J Cancer* 1980; 26: 171-176.
41. Tsuchiya S, Kobayashi Y, Goto Y, Okumura H, Nakae S, Konno T, Tada K. Induction of maturation in cultured human monocytic leukemia cells by a phorbol diester. *Cancer Res* 1982; 42: 1530-1536.
42. Tajima S, Hayashi R, Tsuchiya S, Miyake Y, Yamamoto A. Cells of a human monocytic leukemia cell line (THP-1) synthesize and secrete apolipoprotein E and lipoprotein lipase. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 126: 526-531.
43. Sakai J, Hoshino A, Takahashi S, Miura Y, Ishii H, Suzuki H, Kawarabayasi Y, Yamamoto T. Structure, chromosome location, and expression of the human very low density lipoprotein receptor gene. *J Biol Chem* 1994; 269: 2173-2182.
44. Nishimura N, Harada-Shiba M, Tajima S, Sugano R, Yamamura T, Qiang QZ, Yamamoto A. Acquisition of secretion of transforming growth factor-beta 1 leads to autonomous suppression of scavenger receptor activity in a monocyte-macrophage cell line, THP-1. *J Biol Chem* 1998; 273: 1562-1567.
45. Kurata H, Matsumoto A, Fujiwara Y, Kondo K, Itakura H, Mitchell A, Fidge N. A candidate high density lipoprotein (HDL) receptor, HB2, with possible multiple functions shows sequence homology with adhesion molecules. *J Atheroscler Thromb* 1998; 4: 112-117.
46. Ogru E, Libinaki R, Gianello R, West S, Munteanu A, Zingg JM, Azzi A. Modulation of cell proliferation and gene expression by alpha-tocopheryl phosphates: relevance to atherosclerosis and inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1031: 405-411.
47. Takaku M, Wada Y, Jinnouchi K, Takeya M, Takahashi K, Usuda H, Naito M, Kurihara H, Yazaki Y, Kumazawa Y, Okimoto Y, Umetani M, Noguchi N, Niki E, Hamakubo T, Kodama T. An *in vitro* coculture model of transmigrant monocytes and foam cell formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2330-2339.
48. Sundstrom C, Nilsson K. Establishment and characterization of a human histiocytic lymphoma cell line (U-937). *Int J Cancer* 1976; 17: 565-577.
49. Esfahani M, Scerbo L, Lund-Katz S, DePace DM, Maniglia R, Alexander JK, Phillips MC. Effects of cholesterol and lipoproteins on endocytosis by a monocyte-like cell line. *Biochim Biophys Acta* 1986; 889: 287-300.
50. Moscicki RA, Amento EP, Krane SM, Kurnick JT, Colvin RB. Modulation of surface antigens of a human monocyte cell line, U937, during incubation with T lymphocyte-conditioned medium: detection of T4 antigen and its presence on normal blood monocytes. *J Immunol* 1983; 131: 743-748.
51. Berg KA, Berry ML, Sapareto SA, Petty HR. Fluorescence studies of macrophage recognition and endocytosis of native and acetylated low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1986; 887: 304-314.
52. Shapiro SD, Campbell EJ, Senior RM, Welgus HG. Proteinases secreted by human mononuclear phagocytes. *J Rheumatol Suppl.* 1991; 27: 95-98.
53. Shokawa T, Yoshizumi M, Yamamoto H, Omura S, Toyofuku M, Shimizu Y, Imazu M, Kohno N. Induction of heme oxygenase

- nase-1 inhibits monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression in U937 cells. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 162-166.
54. Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I. Effect of C-reactive protein on vascular cells: evidence for a proinflammatory, proatherogenic role. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005; 14: 33-37.
 55. Koren HS, Anderson SJ, Larrick AW. *In vitro* activation of a human macrophage-like cell line. *Nature* 1979; 279: 328-331.
 56. Lim WC, Chow VT. Gene expression profiles of U937 human macrophages exposed to *Chlamydomonas pneumoniae* and/or low density lipoprotein in five study models using differential display and real-time RT-PCR. *Biochimie* 2006; 88: 367-377.
 57. Frostegard J, Regnstrom J, Tornvall P, Hamsten A, Nilsson J. The susceptibility of low density lipoprotein to chemical oxidation is closely related to proneness to biological modification. *Free Radic Res* 1995; 23: 581-592.
 58. Grewal T, Bartlett A, Burgess JW, Packer NH, Stanley KK. Desialylated LDL uptake in human and mouse macrophages can be mediated by a lectin receptor. *Atherosclerosis* 1996; 121: 151-163.
 59. Fu T, Borensztajn J. Macrophage uptake of low-density lipoprotein bound to aggregated C-reactive protein: possible mechanism of foam-cell formation in atherosclerotic lesions. *Biochem J* 2002; 366: 195-201.
 60. Hammad SM, Taha TA, Nareika A, Johnson KR, Lopes-Virella MF, Obeid LM. Oxidized LDL immune complexes induce release of sphingosine kinase in human U937 monocytic cells. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2006; 79: 126-140.
 61. Maziere JC, Maziere C. Inflammation cytokines and peroxidation of low density lipoproteins (LDL). *C R Seances Soc Biol Fil* 1995; 189: 811-825.
 62. Frostegard J, Wu R, Haegerstrand A, Patarroyo M, Lefvert AK, Nilsson J. Mononuclear leukocytes exposed to oxidized low density lipoprotein secrete a factor that stimulates endothelial cells to express adhesion molecules. *Atherosclerosis* 1993; 103: 213-219.
 63. Yoshizumi M, Abe J, Tsuchiya K, Berk BC, Tamaki T. Stress and vascular responses: atheroprotective effect of laminar fluid shear stress in endothelial cells: possible role of mitogen-activated protein kinases. *J Pharmacol Sci* 2003; 91: 172-176.
 64. Montero I, Orbe J, Varo N, Beloqui O, Monreal JJ, Rodríguez JA, Díez J, Libby P, Paramo JA. C-reactive protein induces matrix metalloproteinase-1 and -10 in human endothelial cells: implications for clinical and subclinical atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 1369-1378.

Revisión

Modelos experimentales *in vivo* de enfermedad inflamatoria intestinal y cáncer colorrectal. Conceptos, modelos actuales y aplicabilidad

J. Mañé Almero

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Barcelona. España.

Resumen

No existe un modelo animal ideal para el estudio de patologías humanas como la EII o el CCR. En la última década, a los modelos inducidos por agentes exógenos se han incorporado los animales manipulados genéticamente. Los modelos experimentales de EII reproducen procesos inflamatorios intestinales heterogéneos, al igual de sucede en el ser humano. Mientras que los modelos de CCR remedan las mutaciones halladas en el hombre aunque con repercusiones fenotípicas diferentes. En ambos casos, estos sistemas experimentales son influidos por la genética y el ambiente. Hoy por hoy, los modelos animales son unos valiosos bioensayos, complejos y completos, para el estudio de nuevas estrategias terapéuticas en la EII (IL-10, anti-IL-12, probióticos) y agentes protectores de la CCR (ácidos grasos n3, AINES y inhibidores de COX-2).

(*Nutr Hosp.* 2007;22:178-89)

Palabras clave: *Modelo animal ideal.*

IN VIVO EXPERIMENTAL MODELS OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASE AND COLORECTAL CANCER

Abstract

There is no ideal animal model for the study of human pathologies such as IBD or CRC. For the last decade, genetically engineered animal models have been incorporated to models induced by exogenous agents. Experimental models of IBD reproduce heterogeneous intestinal inflammatory conditions, as it occurs in the human being, whereas CRC models imitate those mutations found in man although with different phenotypic repercussions. In both cases, these experimental systems are influenced by genetics and the environment. Today, animal models represent valued, complex, and complete bioassays for the study of new therapeutic strategies in IBD (IL-10, anti-IL-12, probiotics) and protective agents in CRC (n-3 fatty acids, NSAIDS, and COX-2 inhibitors).

(*Nutr Hosp.* 2007;22:178-89)

Key words: *Ideal animal model.*

Introducción

Los mecanismos implicados en la iniciación y perpetuación de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) no se conocen con exactitud, aunque se ha sugerido como principales componentes patológicos la susceptibilidad genética, el sistema inmunológico y el ambiente, principalmente la flora bacteriana intestinal.

Correspondencia: Josep Mané Almero
Servicio de Aparato Digestivo
Hospital Universitari Germans Trias i Pujol
Fundació Institut d' Investigació en Ciències de la Salut GTiP
Ctra. Canyet, s/n (Camí de les Escoles)
08916 Badalona (Barcelona)
E-mail: j_manye@yahoo.es
udpde@yahoo.es

Recibido: 2-XI-2006.
Aceptado: 9-XI-2006.

A pesar de que no existen modelos animales que reproduzcan con fidelidad la etiopatogenia de la EII, el conocimiento adquirido a través de estos estudios experimentales nos ha permitido comprender aspectos relacionados con la aparición del brote inflamatorio y con el curso de la patología humana. Además, la mayoría de modelos experimentales de inflamación intestinal permiten hacer aproximaciones a nuevas estrategias terapéuticas en fase preclínica.

A diferencia de lo que sucede en la EII, los mecanismos moleculares y celulares asociados a la carcinogénesis colorrectal humana (CCRh) se encuentran algo más caracterizados. En consecuencia, este conocimiento permite una equiparación más ajustada entre el modelo experimental y la CCRh. Aunque los cambios mutacionales asociados al desarrollo oncológico intestinal en animales no coincide exactamente con el humano, ambos procesos carcinogénicos se

asocian a mutaciones de genes clave en el control del ciclo celular y muestran una gran proximidad fenotípica. Los modelos experimentales *in vivo* de CCRh se han utilizado como bioensayos para el estudio de sustancias potencialmente protectoras frente a la carcinogénesis colorrectal¹⁻³. Además, en los modelos animales de CCRh se han contrastado evidencias epidemiológicas sobre los efectos de diferentes elementos nutricionales en la incidencia de cáncer colorrectal^{1,4-6}. De la misma manera, los modelos experimentales de carcinogénesis intestinal también nos han permitido interpretar acontecimientos epigenéticos relacionados con determinadas mutaciones⁴.

En las últimas décadas la introducción de técnicas de manipulación genética en los laboratorios de fisiología animal ha permitido crear nuevos modelos experimentales. Hoy en día disponemos de modelos en ratas y ratones que pueden sobreexpresar o silenciar una proteína concreta. Existen interesantes modelos experimentales de EII con animales transgénicos que sobreexpresan proteínas como la HLA-B27 humana, el STAT4 o la IL-7 y que muestran una elevada susceptibilidad a cambios en la ecología bacteriana del intestino⁷⁻⁹. Por otra parte, la delección del gen *APC* genera un modelo experimental en ratones que remeda a la Poliposis Adenomatosa Familiar (PAF)². En los nuevos modelos en ratones de EII con mutaciones homocigotas y heterocigotas (knock-out, KO) se da la circunstancia que una alteración genética favorece una inadecuada respuesta inmunológica a diferentes estímulos ambientales. A pesar de las diferencias sustanciales entre la enfermedad humana y la patología animal, existen similitudes a tener en cuenta. Los diversos polimorfismos del gen *NOD2/CARD15* predisponen a padecer la Enfermedad de Crohn (EC) y afectan a la funcionalidad de proteínas relacionadas con el reconocimiento antigénico¹⁰. Al igual que sucede en los estudios sobre la EII en humanos, aspectos como la alteración de la flora bacteriana intestinal o la pérdida de hábitos dietéticos saludables pueden agravar la enfermedad inflamatoria intestinal en animales. Los modelos de ratones KO son una poderosa herramienta que nos permiten estudiar las repercusiones biológicas de una mutación concreta. Por ello, las líneas de ratones con mutaciones en genes relacionados con los mecanismos de reparación de errores de replicación del ADN (*Msh*, *Mlh*) son un excelente modelo para el estudio del Cáncer Colorrectal Hereditario No Polipoide (CCHNP)¹¹⁻¹³. También existen modelos de ratones dobles mutantes como IL-10 (-/-)/iNOS (-/-) o *Apc* (+/-)/ *COX-2* (-/-) que nos permiten estudiar el papel de ciertas proteínas en el proceso inflamatorio o tumoral¹⁴.

Por otra parte, los modelos con ratones atímicos a los que se les inoculan células tumorales o inmunes, de diversa procedencia, constituyen un elegante modelo *in vivo* que recrea las condiciones de un sistema tan complejo como el humano. En estos modelos de ratones inmunodeprimidos se intenta esclarecer las in-

teracciones entre diferentes estirpes de linfocitos o caracterizar la capacidad invasiva de tumores *xeno* o *alotrasplantados*^{3,15,16}.

De forma similar a lo que sucede en humanos, en algunos modelos experimentales de EII aparecen fenómenos oncogénicos en las fases más tardías de la colitis. Existen modelos inducidos, como la administración de Sulfato de Dextrano Sódico (DSS), o combinados, DSS/carcinógeno, que representan una aproximación al estudio de la secuencia inflamación-cáncer en el intestino^{17,18}. Asimismo, muchos modelos de colitis natural o espontánea presentan una elevada incidencia de adenocarcinomas intestinales en las fases más avanzadas de la enfermedad (Tití de cabeza de algodón o los ratones KO de IL-10, Rag2, *G_{ai2}*, o dobles mutantes como Rag2/TGFβ1, TCRβ/p53, IL-2/β2M)¹⁹⁻²².

Básicamente los modelos animales para el estudio de la EII o del CCRh los podemos clasificar en dos categorías: modelos inducidos y modelos espontáneos. Sin embargo, bajo la denominación de modelos espontáneos se engloban modelos con rasgos bien diferenciados entre ellos. En particular, los modelos producidos por manipulación genética, los de trasplante tumoral o celular en ratones inmunodeficientes y los modelos naturales. Los modelos inducidos por la administración diversos agentes químicos adquirieron relevancia por ser relativamente baratos, fácilmente manipulables y razonablemente reproducibles. Estos modelos inducidos han contribuido indudablemente al conocimiento de la patogénesis de la enfermedad humana. Con la llegada de los animales manipulados genéticamente, a pesar de encarecer el modelo experimental, se ha producido un paulatino abandono de algunos modelos inducidos. El hecho de presentar rasgos genotípicos y fenotípicos parecidos a los mostrados por la patología humana es uno de los motivos del auge de modelos experimentales con ratones KO.

Los ratones KO no son la única posibilidad experimental para bloquear la expresión de un gen determinado. La administración de ARN de interferencia atenua la transducción proteica en ratones. Este procedimiento experimental, a la vez, puede contribuir a la búsqueda y desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas sobre modelos *in vivo* de EII y CCRh^{23,24}. Además, los modelos animales no pueden ceñirse exclusivamente a la experimentación en roedores. Contribuciones importantes al conocimiento de la patología inflamatoria y neoplásica humana han surgido a partir de trabajos realizados con invertebrados. Estudios desarrollados en *Drosophila melanogaster* nos han permitido conocer la implicación de los receptores como *toll-like* en la respuesta inmune innata o el reconocimiento de proto-oncogenes (β-catenina) en la vía de señalización Wnt o MutS²⁵⁻²⁸. Aunque estos modelos animales no encajan en la clasificación anterior, representan unos sistemas excelentes para el estudio de los mecanismos moleculares ligados a la patología humana.

A pesar del amplio abanico de posibilidades para el estudio de la EII o CCRh en los modelos *in vivo* actuales, la elección de este ha de contemplar varios aspectos experimentales claves. Un hecho relevante es la variabilidad intra e interespecie en la susceptibilidad y curso de la patología intestinal en los animales²⁹. Por otra parte, un agente inductor dado puede mostrar diferencias en la iniciación y progresión de la enfermedad animal en función de la dosis, la cadencia, la vía de aplicación e incluso entre diferentes lotes de producto. Las patologías intestinales se encuentran claramente influenciadas por el ambiente. Así pues, los criterios de estabulación de los animales han de considerar el control de las condiciones ambientales. Un ejemplo de ello lo constituye la ausencia de lesiones intestinales en ratones IL-10 (-/-) mantenidos en condiciones de completa esterilidad, a diferencia de los KO estabulados en condiciones libres de patógenos que presentan lesiones restringidas al colon distal y que pueden agravarse en animales mantenidos en condiciones ambientales convencionales o con infecciones por enteropatógenos^{20,21,30}.

Los modelos experimentales *in vivo* nunca pueden llegar a sustituir al ser humano como modelo paradigmático para el estudio de la EII y la CCRh, pero consideraciones éticas obvias hacen que, hoy por hoy, estos modelos animales tengan una gran vigencia.

Desde diferentes organismos se han regulado los estudios con animales de experimentación atendiendo a consideraciones éticas sobre bienestar animal. Es importante que estos sistemas experimentales se ajusten a dichas Normativas³¹. Además, la unificación de los procedimientos con el objetivo de mitigar el impacto que puedan tener sobre el animal, facilitan la equiparación de los resultados obtenidos entre laboratorios diferentes.

Modelos animales de EII y su aplicabilidad

Actualmente, se están definiendo diferentes componentes que contribuirían a la iniciación y perpetuación de la EII³². No obstante, en ningún caso los modelos animales de los que disponemos muestran un completo grado de coincidencia etiológica y patológica con la enfermedad humana. Por tanto, es fundamental conocer las cualidades y limitaciones de cualquier modelo *in vivo* de EII. De esta forma, la idoneidad del modelo elegido será determinada por sus características y por los objetivos del estudio.

Modelos inducidos de colitis experimental

Estos modelos están siendo utilizados desde la década de los 80 en el estudio de la fisiopatología de la EII³³. Entre las diferentes sustancias inductoras podemos distinguir agentes químicos, polisacáridos sulfatados e inmunocomplejos microbianos, así como elementos farmacéuticos (tabla I). Los estudios llevados a cabo mediante estos modelos experimentales han fo-

calizado su atención en mecanismos de inmunidad innata (células presentadoras de antígeno, neutrófilos, moléculas del complemento y citotoxicidad), inflamación no específica (eicosanoides, mieloperoxidasa, citocinas y radicales libres de oxígeno) y reparación (fibrosis y factores de crecimiento)²⁹. En general son modelos influenciados por la flora bacteriana intestinal y por diversos componentes dietéticos³⁴⁻⁴⁰. Suelen ser altamente reproducibles y las especies animales empleadas, principalmente rata y ratón, fácilmente manipulables. La colitis experimental puede inducirse mediante la administración de enemas intracolónicos de ácido acético, ácido trinitrobenzenosulfónico (TNBS)/Etanol y Oxazolona. Otras vías de administración son la oral para los polímeros y polisacáridos sulfatados y la subcutánea para la ciclosporina e indometacina. Las colitis inducidas de forma oral cursan con una fase aguda que puede durar entre una y varias semanas, mientras que las colitis inducidas por enemas la fase aguda se limita a unos 3 días post-inducción²⁹. En este instante se observa un aumento de ciertos marcadores inflamatorios que se correlacionan con la gravedad del proceso inflamatorio intestinal. Estos mediadores inflamatorios provienen del metabolismo del ácido araquidónico (eicosanoides, COX), del metabolismo oxidativo (metabolitos reactivos de oxígeno, iNOS, mieloperoxidasa, etc.) y de reacciones inmunológicas a nivel intestinal (citoquinas, factores de crecimiento). En general, el proceso inflamatorio intestinal evoluciona sin aparición de nuevos brotes llegando a resolverse de forma espontánea.

Tradicionalmente, la colitis inducida por inmunocomplejos, carragenina o péptidoglicano-polisacárido se ha empleado en el estudio de las alteraciones inmunológicas intestinales. En el primero se ha demostrado la capacidad lesiva de neutrófilos y macrófagos activados por el complemento en el intestino de ratas⁴¹. En la colitis inducida por carragenina se produce una lesión cecal y colónica que reviste características crónicas. Las bacterias anaeróbicas luminales y *Bacteroides vulgatus* se han implicado en la patogénesis de esta colitis experimental³⁹. Por otro lado, los péptidoglicanos-polisacáridos procedentes de la pared de bacterias gram-positivas y gram negativas inyectados en diferentes tramos del intestino de la rata provoca después de 9 o 11 días la aparición de una enterocolitis granulomatosa, discontinua y transmural^{42,43}. Este modelo muestra una elevada variabilidad del proceso inflamatorio intestinal en función de la cepa de rata empleada y la implicación de linfocitos T, macrófagos, IL-1, TNF, la molécula de adhesión MadCAM-1 y el óxido nítrico en la fisiopatología inflamatoria⁴²⁻⁴⁵.

Algunos de los modelos de colitis inducida se basan en características farmacológicas de los agentes empleados. La indometacina puede ser administrada a los animales de forma oral o subcutánea, el mecanismo patogénico se basa en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, lo que repercute negativamente en el mantenimiento de la función barrera mucosa intesti-

Tabla I
Características de los modelos animales inducidos de EII

<i>Ac. acético</i>	<i>Inmunocomplejos</i>	<i>TNBS/Etanol</i>	<i>Oxazolona</i>	<i>PG-PS</i>	<i>Carragenina</i>	<i>DSS</i>	<i>Ciclosporina</i>	<i>Indometacina</i>
enema Rata, ratón conejo, cabaya	enema/i.v. Conejo, rata	enema Rata, ratón, conejo	enema Rata, ratón	Intra-mural Rata	oral Cobaya, rata, ratón	Oral (ciclos) Rata, ratón, hámster	s.c. ratón	s.c./oral Rata, ratón, perro
	Colon distal y recto (distribución continua)			Colon proximal y ciego (discontinua)		Colon (continua)		Intestino delgado (discontinua)
		Fase aguda hasta 3 días post-inducción			(continua)			
Fase crónica: No		8 semanas (ratas)		1-3 semanas	3-6 semanas	7-10 días	2 semanas	2-3 días
		2-3 semanas (ratón)				2-3 semanas	1-4 semanas	7-10 días (R. Fisher)
						(12 semanas)		11 semanas (R. Lewis)
Mucosa transmural	Mucosa > submucosa	Transmural (granulomas)	Mucosa > submuc.	transmural	Mucosa y submucosa		transmural	transmural
Lesión por ácido orgánico.	Activación del complemento.	Reacción de hipersensibilidad retardada por alérgeno.	Reacción de hipersensibilidad por contacto.	Activación de macrófagos y células T.	Erosión epitelial con disfunción de macrófagos.	Erosión epitelial con disfunción de macrófagos.	Activación de células T.	Inhibición de la síntesis de PGE2 y PGI2
Valores elevados de IL-1, LTB4, PGE2, TXB2, ON, histamina, PAF	Valores elevados de IL-1, IL-1R, LTB4, PGE2.	Valores elevados de IL-1, IL-6, IL-12, IFN, TNF PGE2, LTB, ON.	Valores elevados de IL-4 y IL-5	Valores elevados de PGE2, ON, IL-1, IL-6, IGF1 y IκB	Valores elevados de PGE2 y TXB2	Valores elevados de PGE2, TXB2, LTB4, IL-2, IL-4, y IL-6	Valores elevados de IFN, IL-1, TNF.	
Influencia bacteriana: No	No	Sí (etapas de cronificación)	?	Sí	Sí	Sí	?	Sí (etapas de cronificación)
Reproducibilidad: 100%	90%	90-100% (ratas) 60-80% (ratón)	?	80-95%	90%	100%	?	90-100%
Características	CU	EC	CU	EC	CU	CU	CU	EC

CU: colitis ulcerosa.

EC: Enfermedad de Crohn.

nal⁴⁶. Los animales genéticamente más susceptibles pueden prorrogar el proceso inflamatorio crónico hasta 11 semanas (ratas Lewis) con la aparición de úlceras que se distribuyen de forma discontinua a lo largo del intestino delgado. Otra colitis medicamentosa que, al igual que la anterior, puede ser inducida vía subcutánea o vía oral es la que se consigue con ciclosporina A. Concretamente, los ratones previamente irradiados reciben médula ósea libre de células T maduras y son tratados con ciclosporina A. La finalización del tratamiento inmunosupresor reactiva la susceptibilidad del injerto contra el huésped y esto se traduce en la aparición de un síndrome inflamatorio que afecta, entre otros órganos, al intestino⁴⁷. En estos modelos se ha observado la determinante influencia de la flora intestinal en el desarrollo de esta colitis experimental^{48,49}. Estos modelos han proporcionado un acercamiento en el conocimiento de los mecanismos patogénicos de las células T⁴⁹.

Entre los modelos de colitis experimental más empleados en la actualidad destacan la colitis inducida por TNBS y la inducida por DSS. A diferencia de la colitis inducida por enemas diluidos de ácido acético⁵⁰, en la colitis inducida por TNBS o DSS se puede distinguir una fase aguda inicial que puede evolucionar hacia un proceso inflamatorio de característi-

cas crónicas con presencia de estenosis, adherencias, engrosamiento de la pared intestinal, diarrea sangui-nolenta y una significativa pérdida de peso de los animales.

Colitis inducida por TNBS

La colitis inducida por instilación intrarrectal de un enema de TNBS con etanol diluido fue descrito por primera vez en ratas por *Morris y cols.*⁵¹. Este modelo se ha reproducido en otras especies animales como en ratones y conejos²⁹. En general, existe una variabilidad en el curso clínico de esta patología entre cepas de animales de la misma especie y entre diferentes especies. Un sólo enema de TNBS llega a provocar una colitis de hasta 8 semanas de duración en las líneas de ratas más susceptibles, mientras que los ratones se muestran más resistentes a la inducción de la lesión intestinal^{29,51}. El enema de TNBS/etanol provoca una lesión continua, restringida al colon distal, con importantes áreas de necrosis y de afectación transmural (fig. 1). Se ha sugerido un mecanismo patogénico basado en la capacidad del etanol en debilitar la barrera mucosa, lo que facilitaría el contacto entre antígenos lumenales colónicos y la *lamina propria*⁵¹. Consecuentemente, se iniciaría una fase inicial con la participa-

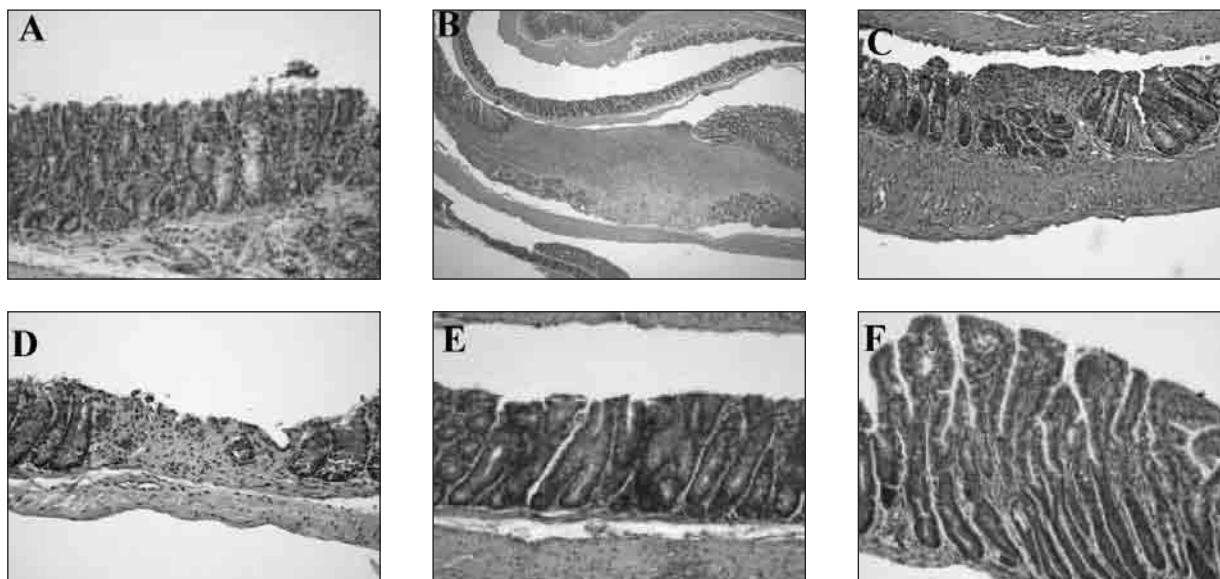


Fig. 1.—Lesiones colónicas observadas en ratones inducidos con 1 mg de TNBS/Etanol (50% v/v). A y C) Áreas de necrosis, criptitis, engrosamiento de la capa muscular e intenso infiltrado agudo. B-D) Úlceras delimitadas, de afectación transmural e intenso infiltrado mononuclear. E, F) Fenómenos de hiperplasia.

ción de macrófagos y neutrófilos activados por una gran variedad de estímulos que generan grandes cantidades de metabolitos altamente reactivos de oxígeno^{51,52}. Los efectos deletéreos pueden verse agudizados por la causticidad propia del TNBS que puede generar sustancias poderosamente citotóxicas como O_2^- y H_2O_2 ⁵³. Adicionalmente, el TNBS (hapteno) puede modificar la estructura de proteínas de la superficie celular por su capacidad de unirse covalentemente a residuos de lisina y tirosina. Esto provoca una inmunoreactivación por parte de macrófagos y linfocitos T semejante a una reacción de hipersensibilidad retardada por alérgeno^{53,54}.

Numerosos estudios han evaluado diversas terapias farmacológicas con este modelo experimental^{55,56}. Estudios nutricionales han mostrado la capacidad de los ácidos grasos n3 de atenuar el proceso inflamatorio^{57,58}, tal vez mediado a través de la modulación de la síntesis de LTB_4 ³⁸. Antioxidantes, bacterias probióticas y prebióticos, también se han mostrado eficaces para reducir la lesión inducida por TNBS/etanol⁵⁹⁻⁶¹. En definitiva, a pesar de la evidentes diferencias etiopatológicas entre el proceso inflamatorio intestinal inducido por TNBS y la EII, por su simplicidad y reproducibilidad este modelo animal es de los más citados en el estudio de los procesos inflamatorios intestinales.

Colitis inducida por DSS

A diferencia de la colitis experimental inducida por TNBS, más semejante a la EC por el carácter transmural de las lesiones intestinales^{29,51}, la administración de

concentraciones variables de DSS en el agua de beber provoca en ratones, ratas y hámsters lesiones colónicas que remedan a la Colitis Ulcerosa (CU). Las lesiones afectan a la mucosa y submucosa intestinal con presencia de ulceraciones, más evidentes en el colon izquierdo y que progresan distalmente. Cuando la administración oral de DSS se lleva a término de forma cíclica, los ratones llegan a desarrollar una colitis crónica que se puede prolongar varias semanas después del cese de la administración. Las lesiones crónicas suelen caracterizarse por la presencia de prominentes folículos linfoides y presencia de displasia epitelial. Consecuentemente, en las fases más avanzadas de este proceso inflamatorio intestinal, los animales tratados con DSS muestran una elevada incidencia de cáncer colónico¹⁷. El DSS es un polímero sulfatado con capacidad citotóxica sobre las células epiteliales intestinales y los macrófagos. Además, el DSS enteral favorece el aumento de bacterias anaeróbicas gram-negativas, lo que junto con el potencial erosivo sobre la barrera intestinal y la inapropiada respuesta de los macrófagos propiciaría la aparición de las lesiones intestinales^{29,33}.

En este modelo se ha observado la decisiva influencia de la flora intestinal en el desarrollo de las lesiones intestinales. En general, los tratamientos con antibióticos, prebióticos y probióticos consiguen mitigar la capacidad lesiva del DSS³⁴. La administración dietética de sustancias antioxidantes como vitaminas o incluso ácidos grasos dietéticos n3 disminuyen la lesión colónica paralelamente con un descenso en la producción local de LTB_4 , óxido nítrico y de citocinas proinflamatorias³⁵⁻³⁷.

Modelos animales de colitis espontánea

A diferencia de los modelos animales anteriores, los modelos espontáneos representan una aproximación razonable al estudio de los factores que predisponen a padecer la EII. En estos modelos experimentales mutaciones en genes clave del sistema inmune conducen a procesos inflamatorios intestinales de diversa índole. En general, la sintomatología inflamatoria se intensifica progresivamente hasta la muerte del animal. El Tití de cabeza de algodón (*Sanguinus oedipus*) desarrolla de forma natural una colitis crónica, recurrente e influenciada por el estrés que sufren en cautividad. En su patogénesis se han implicado alteraciones del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y en genes relacionados con la producción de mucina¹⁹. De forma parecida, ratones C3H/HeJ cruzados de forma selectiva desarrollan un proceso inflamatorio espontáneo en el colon derecho, con presencia de ulceraciones perianales y coincidente con la colonización bacteriana del intestino⁶². Por otro lado, en las ratas transgénicas HLA-B27/β2m se ha puesto de manifiesto la participación de moléculas de clase I del MHC en un síndrome inflamatorio sistémico que provoca colitis y artritis principalmente⁶³.

Deleciones homocigotas en genes que codifican para receptores de células T (TCRα), TCRβ, TCRβδ y proteínas de clase II del MHC provocan una inflamación colónica crónica con prolapso anorrectal y sin ulceraciones ni diarrea sanguinolenta hacia los 3 ó 4 meses de vida⁶⁴. Se ha sugerido un mecanismo patogénico basado en el descenso en la tolerancia a antígenos dietéticos o microbianos debido a la incapacidad de las células CD4⁺ [TCRα (-/-) o TCRβ (-/-)] de suprimir la actividad de las células B productoras de inmunoglobulinas que, eventualmente, producirían un ataque de características autoinmunes contra el propio epitelio colónico⁶⁵. De forma parecida, los ratones KO de Gα₁₂ desarrollan una pancolitis entre las semanas 8 y 12 de vida⁶⁶. Las lesiones intestinales son más graves en el colon distal y en las etapas más avanzadas pueden aparecer perforaciones y adenocarcinomas intestinales. La familia de proteínas G es esencial en la transmisión citoplasmática de señales extracelulares capaces de regular la maduración de células inmuno-competentes y la producción de TNF⁶⁷. En el colon de ratones Gα₁₂ (-/-) se ha observado un aumento de células CD4⁺ y una elevada producción de inmunoglobulinas G y M⁶⁸.

Se han generado varios modelos de ratones con mutaciones en genes de citocinas para el estudio de sus funciones biológicas *in vivo*. Entre estos modelos de ratones KO destacan los deficientes para la IL-2 y para la IL-10 por desarrollar una enterocolitis espontánea altamente reproducible e influenciada por el ambiente^{30,69}. Asimismo, ratones portadores de mutaciones que afectan a moléculas de la vía de señalización de la IL-10 (STAT3 y CRF2-4) o a la producción de TGFβ₁ o TNFα también cursan con inflamación in-

testinal. En los primeros, existe un cierto grado de similitud fenotípica con la enterocolitis de los ratones IL-10 (-/-), mientras que las mutaciones en TGFβ₁ o TNFα provocan un proceso inflamatorio multiorgánico⁷⁰⁻⁷³.

Los ratones IL-2 (-/-) sufren un progresivo proceso inflamatorio intestinal con una elevada mortalidad entre los dos y los tres meses de vida. La colitis se desarrolla con diarrea crónica, intermitentemente sanguinolenta, y con prolapso rectal. Las lesiones se distribuyen de forma continua en el colon distal principalmente, afectando a la mucosa y submucosa. Histológicamente, presentan importantes áreas de ulceración, depleción de células mucilaginosas, hiperplasia y abscesos en las criptas intestinales⁶⁹. La etiología de la inflamación intestinal en ratones IL-2 (-/-) es similar a la de los ratones con mutaciones en TCR⁶⁵, aunque en los ratones IL-2 (-/-) la estimulación antigénica por parte de la flora intestinal no patógena es esencial para la aparición de colitis⁷⁴. Los animales deficientes para la IL-2 muestran similitudes patológicas con la CU. En ambas patologías, la mucosa colónica contiene un elevado número de células T (no TCRγδ⁺) y B activadas y un patrón similar de citocinas^{69,75}.

En ratones con una mutación bialélica en el gen de la IL-10 aparece una inflamación intestinal hacia las 12 semanas de vida. Esta patología es especialmente intensa si los animales están en contacto con enteropatógenos potenciales³⁰. En cambio, los ratones mantenidos en condiciones de máxima esterilidad no desarrollan colitis. Las cepas más sensibles de ratones IL-10 (-/-) pueden desarrollar una pancolitis acompañada de anemia y una significativa pérdida de peso corporal. Histológicamente destaca la presencia de lesiones transmural y la pérdida de la función barrera intestinal^{29,30}. En los ratones deficientes para la IL-2, la respuesta inflamatoria es de tipo Th-2 (con niveles colónicos elevados de IL-4), mientras que los ratones KO de IL-10 son incapaces de atenuar la respuesta Th-1 (con niveles colónicos elevados de INF, TNF y IL-12)^{20,29,76}. Se ha sugerido que macrófagos y linfocitos CD4⁺ activados por diferentes componentes luminales son los principales causantes de la colitis en los ratones IL-10 (-/-). Las características inmunopatológicas de este modelo de colitis espontánea remedian la EC. La colitis experimental inducida por TNBS también tiene ciertas características comunes con la enterocolitis en ratones IL-10 (-/-). No obstante, este último no requiere de la iNOS y si de la presencia de IFN para la iniciación del proceso inflamatorio intestinal^{14,76}. Además, el 60% de los animales mantenidos en condiciones convencionales desarrollan tumores colónicos en las fases más avanzadas de la enfermedad⁷⁷.

Diferentes aproximaciones terapéuticas se están llevando a cabo en estos modelos de colitis experimental espontánea. El bloqueo de ciertas citocinas pro-inflamatorias (p. ej.: IL-12) se han mostrado eficaces en el tratamiento de la colitis en los ratones IL-10 (-/-)⁷⁸.

Contrariamente, los antiinflamatorios no esteroideos contribuyen a exacerbar la inflamación intestinal en este modelo⁷⁹. En estos modelos, altamente sensibles a las alteraciones de la flora bacteriana, el tratamiento con *Lactobacillus sp.* tiene un efecto preventivo en la aparición de la colitis.⁸⁰ Resultados recientes de nuestro laboratorio relacionan la disminución de los ácidos grasos n6 dietéticos con una mejor evolución de la colitis en ratones IL-10 (-/-)⁸¹.

Colitis inducida mediante transferencia de linfocitos

Los ratones inmunodeficientes SCID y Rag2(-/-) tienen una mutación que les provoca la deficiencia de células T y células B^{15,82}, mientras que la cepa de ratones transgénicos TγE23 carecen totalmente de células T y células NK⁸³. En estos sistemas experimentales aceptan la transferencia de ciertas estirpes celulares y permiten estudiar su papel fisiopatológico en la EII.

Los ratones TγE23 desarrollan colitis al ser trasplantados con médula ósea procedente de ratones normales⁸³. La patogénesis de esta colitis experimental se basa en la maduración aberrante de células T (células T TCRαβ⁺ y TCRγδ⁺) y células NK que provoca en los huéspedes un proceso inflamatorio de características Th-1⁸⁴. Por otro lado, la colitis inducida en ratones SCID al reconstituirlos con células T CD4⁺RB^{high} no se produce si se co-administran con células T CD4⁺RB^{low} y CD8⁺¹⁵. De la misma manera, las células productoras de IL-10 y TGFβ también pueden prevenir la colitis por transferencia de células T reactivas en estos ratones atímicos^{76,85}. Además, el tratamiento de los animales inmunodeprimidos con anti-TNF o anti-IFN consigue atenuar la colitis inducida por transferencia de células CD4⁺RB^{high}⁸⁶. Los linfocitos de la lamina propia CD4⁺TCRαβ⁺ se han relacionado con la patogénesis de la enfermedad inflamatoria en ratones IL-10 (-/-) y en humanos por inducir un proceso inflamatorio intestinal de tipo Th-1 en ratones Rag2(-/-) y SCID^{87,88}.

En cualquier caso, una característica destacable de estos animales atímicos es la necesidad de la presencia de la flora intestinal para activar el proceso inflamatorio¹⁵.

Modelos animales de CCRh

Existe una larga trayectoria en el estudio de potenciales agentes protectores frente a la CCRh en modelos animales inducidos por carcinógenos, en ratones KO de diferentes oncogenes y en ratones inmunodeficientes *xeno* o *alotrasplantados* con células tumorales¹⁻⁶. La incidencia de tumores colónicos es el principal parámetro evaluado en estos sistemas experimentales. Si bien, otros marcadores intermediarios han permitido determinar los mecanismos de progresión y promoción tumoral. Se ha sugerido que el equilibrio entre proliferación y apoptosis es crucial en el mantenimiento de la homeostasis intestinal⁵. El aumento en la actividad de la Ornitina Decarboxilasa y de la PKC-β2, así como la expresión de diversos proto-oncogenes (*c-myc* y *ciclina D1*) se ha relacionado con un aumento de la proliferación del epitelio intestinal^{5,90,91}. Del mismo modo, el metabolismo del ácido araquidónico (COX-2, prostaglandina E₂ y sus receptores) y oxidativo (Nitritos/Nitratos, iNOS) se ha implicado en etapas de promoción y progresión tumoral en modelos animales de CCRh^{3,90,92}. Por otra parte, los focos de criptas aberrantes (FCA) son lesiones intestinales pre-neoplásicas que aparecen después de la administración de carcinógenos en las ratas. Los FCA contienen criptas con una abertura luminal alterada y la capa epitelial engrosada. Destacan sobre el resto de criptas normales por su mayor tamaño y por la existencia de una separación pericriptal⁹¹. En los FCA aparece una elevada actividad proliferativa, en algunas ocasiones fenómenos de displasia y mutaciones frecuentes en *K-ras* (tabla II)^{89,91}. Además, estas lesiones premalignas se consideran precursoras del desarrollo adenoma-car-

Tabla II
Alteraciones genéticas en diferentes modelos de cáncer

Especie	Carcinógeno	Lesión	APC	β-catenina	K-ras	DCC	p53
Frecuencia mutacional							
Hombre		Adenocarcinoma	40-80	15	40-60	40-70	50-80
		Adenoma	40-65	–	0-40	–	–
		FCA	< 5	–	10-95	–	–
Rata	AOM	Adenocarcinoma	8	75	30-60	–	0
		FCA	0	–	20-40	–	0
	PhIP	Adenocarcinoma	13	50	0	–	0
Ratón	AOM	Adenocarcinoma	–	100	0-10	–	–

AOM: azoximetano.

PhIP: 2 amino-1-metil-6-fenilimidazol (4,5b) piridina

FCA: Focos de Criptas Aberrantes.

cinoma intestinal en humanos⁹¹. Recientemente, se han descrito otras lesiones pre-cancerígenas como las criptas con acúmulos de β -catenina que también pueden considerarse biomarcadores específicos de la carcinogénesis colorectal⁹³.

Entre los modelos experimentales de cáncer colorectal no espontáneo destacan los inducidos por derivados de 1,2-dimetilhidrazina como el azoximetano (AOM). La administración subcutánea de AOM induce la formación de tumores predominantemente en el colon distal de ratas y ratones. El metabolismo de este carcinógeno genera sustancias citotóxicas para los colonocitos a las pocas horas de la inducción⁸⁹. Esta etapa de iniciación se caracteriza por cambios en la homeostasis del epitelio intestinal que conducen al aumento de la proliferación. Paralelamente, el AOM puede introducir mutaciones que confieren un elevado potencial de transformación neoplásica a las células intestinales que escapan de la apoptosis. Se ha observado un progresivo aumento en la formación de FCA, la aparición de mutaciones en *K-ras* y β -catenina, e inestabilidad de microsatélites en el colon de animales inducidos con AOM. Estas características fenotípicas de progresión oncogénica por administración de AOM son similares histopatológicamente a la progresión de la CCRh^{90,91,93}. No obstante, a diferencia de lo que sucede en humanos, los tumores inducidos por AOM muestran una baja frecuencia en mutaciones de *APC* (< 10%) e inexistente para *p53* y *DCC* (tabla II)⁹⁰. Otros carcinógenos procedentes de la cocción de carnes y pescados, menos empleados en el estudio de la carcinogénesis colorrectal, son las nitrosaminas y aminas heterocíclicas como 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-*b*]piridina (PhIP). El PhIP induce un proceso carcinogénico con aparición de lesiones preneoplásicas (FCA), sin mutaciones en *K-ras* ni *p53*, pero con una frecuencia de mutaciones en *APC* cercana al 15% e inestabilidad de microsatélites (tabla II)^{2,94}. Una de las particularidades de los modelos inducidos de CCRh en los estudios de quimioprevención es que los tratamientos pueden iniciarse antes de la inducción con el carcinógeno, en la etapa de iniciación, a través de la fase de promoción-progresión tumoral o durante todos los períodos.

En la década de los 90 se generó un ratón KO (Min) que desarrolla de forma espontánea un rápido y múltiple proceso neoplásico intestinal similar a la PAF y a la mayoría de cáncer colorrectal esporádico humano⁹⁵. El ratón Min es portador de una mutación dominante que consiste en una delección inactivadora del gen *Apc* (codón 850), homólogo del gen *APC* humano. La alteración del gen *Apc* impide la degradación de la β -catenina citoplasmática a través de la vía señalizadora Wnt²⁷. La estabilización de la β -catenina en el citoplasma conlleva la activación de factor de transcripción nuclear β -catenina/Tcf que puede activar diversos genes diana relacionados con el control del ciclo celular. Actualmente existen ratones viables *Apc* (+/-), los *Apc* (-/-) no lo son, con alteraciones en los codones

580, 716, 1309 y 1.638 del gen *Apc* y con mutaciones adicionales en oncogenes o protooncogenes (*Mlh1*, *Msh2*, *iNOS* y *COX-2*)^{2,3,13}. De forma similar a los humanos, las delecciones en diferentes codones de *Apc* implican fenotipos heterogéneos en el proceso neoplásico intestinal. Los ratones *Apc* (+/-)^{A850} desarrollan menos pólipos adenomatosos intestinales que el doble mutante *Apc* (+/-)^{A850}*Msh2* (-/-) y que *Apc* (+/-)⁻⁷¹⁶ [40 ± 20 vs 165 ± 145 vs 250 ± 95 , respectivamente], mientras que los dobles mutantes *Apc* (+/-)/*COX-2* (-/-) o *iNOS* (-/-) muestran menos pólipos intestinales que la línea *Apc* (+/-)^{A850}. No obstante, existen diferencias sustanciales entre el modelo de ratones Min y la CCRh. En humanos, los adenomas suelen encontrarse tanto en el colon como en el duodeno, mientras en los ratones Min se disponen principalmente a lo largo del intestino delgado⁹⁵. Además, a diferencia de lo que sucede en la CCRh y en los modelos inducidos, los microadenomas presentes a las pocas semanas de vida en los ratones *Apc* (+/-) limitan su crecimiento, lo que comporta una baja incidencia tumoral en edades más avanzadas y sugiere que la mutación en *Apc* es condición necesaria pero no suficiente para el desarrollo de tumoral⁹³. Tampoco han sido detectadas mutaciones en *K-ras* y *p53* en este modelo de neoplasia intestinal espontánea, contrariamente a lo que se observa en los tumores colónicos humanos^{2,91}. Aunque los mecanismos implicados la aparición de las lesiones intestinales no se conocen con exactitud, recientemente se ha observado la presencia de mutaciones adicionales bialélicas del gen *Apc* en los adenomas intestinales de los ratones *Apc* (+/-)⁹³.

De forma parecida a la CCHNP, las células los ratones deficientes para *Msh2* y *Mlh1* muestran una progresiva pérdida del sistema de reparación de errores de replicación del ADN¹². Existen nueve modelos de ratones deficientes en proteínas MutS [*Msh2* (-/-), *Msh3* (-/-), *Msh4* (-/-), *Msh5* (-/-), *Msh6* (-/-)] y MutL [*Mlh1* (-/-), *Pms1* (-/-), *Pms2* (-/-) y *Mlh3* (-/-)] homólogas en mamíferos del sistema de reparación de errores de replicación de ADN de *Escherichia coli*¹³. Estos nueve modelos de ratones KO reproducen mutaciones coincidentes con las descritas en CCHNP. En general los ratones KO homocigotos sufren linfomas muy agresivos acompañados de la aparición de cáncer en el tracto gastrointestinal y piel, entre otros¹³. Contrariamente, los mutantes heterocigotos muestran una patología neoplásica menos agresiva. Los ratones *Msh2* (-/-) y *Mlh1* (-/-) son los que muestran un proceso tumoral más grave que se inicia aproximadamente a los 6 meses de vida. Los *Msh6* (-/-) tienen un fenotipo tumoral parecido a los anteriores modelos, pero las formaciones neoplásicas aparecen entre los 9 y 12 meses de vida de los animales. Mientras que *Mlh3* (-/-) y *Pms2* (-/-) tienen una baja predisposición a padecer cáncer en el tracto digestivo. En el resto de modelos KO del sistema de reparación de errores de replicación del ADN no se ha observado una clara susceptibilidad a la carcinogénesis¹¹. Los fenotipos tumorales

más penetrantes en estos modelos animales de CCHNP coinciden con una mayor inestabilidad de microsatélites. Estos modelos experimentales, por la destacable similitud con la CCHNP, permiten conocer la contribución de cada uno de los miembros del sistema de reparación de errores de replicación de ADN al proceso tumoral.

Los ratones inmunodeficientes (SCID) pueden ser inyectados o *xenotrasplantados* subcutáneamente con líneas inmortalizadas de células cancerígenas (HCT-116 y HCA-7), tumores sólidos o células tumorales aisladas humanas³. En estos sistemas experimentales se ensayan potenciales terapias anticancerígenas en fase preclínica donde se evalúa el volumen de los tumores y el tiempo de vida de los animales tratados con nuevos compuestos farmacológicos respecto a los no tratados (fig. 2)⁹⁶. Sin embargo, la localización subcutánea de estos injertos no se corresponde con la localización intestinal inicial. En consecuencia, el cambio de ubicación puede alterar el comportamiento de las células cancerígenas y tumores intestinales injertados frente a las diferentes terapias estudiadas. En este sentido, el trasplante ortotópico de tumores humanos histológicamente intactos, incluyendo tumores extraídos directamente del paciente, supone un modelo más adecuado para el estudio de nuevos fármacos inhibidores del crecimiento tumoral en el intestino de estos ratones atímicos¹⁶.

Prácticamente en todos los modelos animales de CCRh se ha demostrado el carácter protector de los antiinflamatorios no esteroideos (Aspirina, Ibuprofeno, Piroxicam, Sulindac, etc.) y los inhibidores de la COX-2 (Celecoxib)^{1-3,89}. Asimismo, en estos modelos *in vivo* de cáncer intestinal se ha puesto de manifiesto los efectos perjudiciales de ciertos hábitos no saludables del estilo de vida occidental. En este sentido, el elevado consumo de grasa, principalmente de origen animal y ácidos grasos n6, y el descenso en la ingesta de los ácidos grasos n3, Calcio, vitamina D, ácido fó-

lico y celulosa se han asociado a un aumento de los procesos neoplásicos intestinales tanto en los modelos experimentales como en los estudios epidemiológicos sobre la CCRh^{1,4-6,92}.

Consideraciones finales

En la actualidad, los modelos experimentales *in vivo* inducidos de EII y CCRh se han visto complementados con la aparición de los modelos genéticos. Esto ha supuesto una indudable mejora en la comprensión de los mecanismos moleculares y celulares relacionados con estas patologías intestinales humanas. Además, el uso de modelos combinados o con dobles mutantes reproducen situaciones experimentales fenotípicamente cercanas al modelo humano. Hoy por hoy, estos modelos *in vivo* suponen una aproximación razonable al estudio de nuevas dianas terapéuticas y al conocimiento de hábitos no saludables de nuestro estilo de vida. A pesar de ello, los sistemas experimentales *in vivo* actuales no consiguen reproducir completamente la complejidad de la EII y la CCRh. En el futuro aparecerán nuevos modelos genéticos viables de ratones KO y animales con modificaciones en la funcionalidad de proteínas concretas (*knock-in*) que nos permitirán mejorar los actuales. Estos modelos, junto con la tecnología de microarrays para expresión génica y la proteómica, constituirán poderosas herramientas para profundizar en el conocimiento fisiopatológico de la EII y la CCRh.

Agradecimientos

A las licenciadas E. Pedrosa, V. Lorén por aportar datos recientes de sus últimas investigaciones y a la Diplomada P. Milke por ayudarme en los aspectos formales del texto.

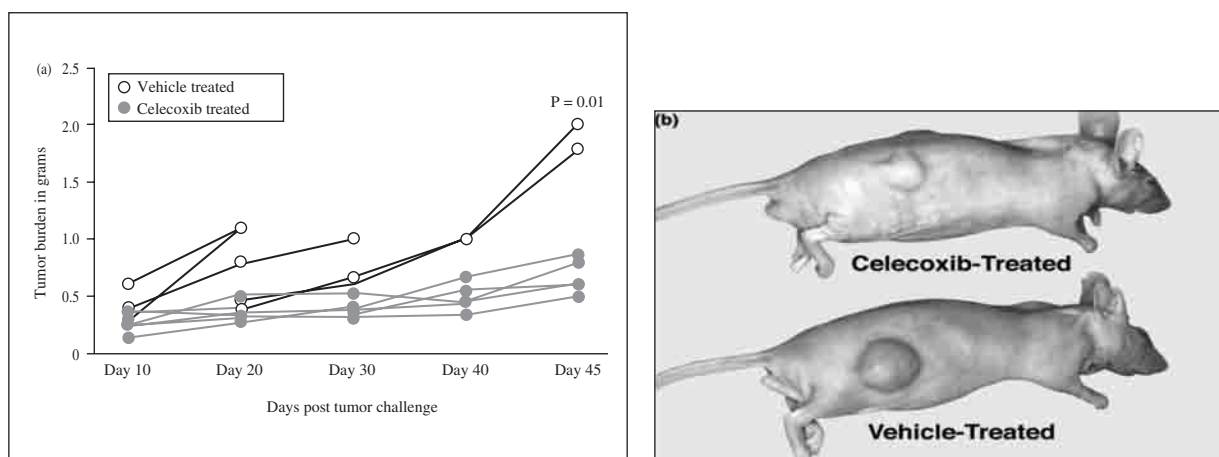


Fig. 2.—Respuesta al tratamiento con un inhibidor de la COX-2 de tumores xenotrasplantados a ratones SCID.

Referencias

- Corpet DE, Pierre F. Point: From Animal Models to Prevention of Colon Cancer. Systematic Review of Chemoprevention in Min Mice and Choice of the Model System. *Cancer Epidemiol, Biomarkers & Prevention* 2003; 12: 391-400.
- Corpet DE, Pierre F. How good are rodent models of carcinogenesis in predicting efficacy in humans? A systematic review and meta-analysis of colon chemoprevention in rats mice and men. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1911-22.
- Oshima M, Taketo MM. COX selectivity and animal models for colon cancer. *Curr Pharmaceutical Design* 2002; 8: 1021-34.
- Mutanen M, Pajari A-M, Oikarinen SI. Beff induces and rye bran prevents the formation of intestinal polyps in ApcMin mice: relation to b-catenin and PKC isoenzymes. *Carcinogenesis* 2000; 21: 1167-73.
- Klurfeld DM, Bull AW. Fatty acids and colon cancer in experimental models. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 1530S-8S.
- Calder PC, Davis J, Yaqoob b P, Pala H, Thies F, Newsholme EA. Dietary fish oil suppress human colon tumor growth in athymic mice. *Clin Sci* 1998; 94: 303-11.
- Taurog JD, Richardson JA, Croft JT y cols. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: a animal model of HLA-B27-associated humans disorders. *J Exp Med* 1994; 180: 2359-64.
- Wirtz S, Finotto S, Kanzler S y cols. Cutting edge: chronic intestinal inflammation in STAT-4 transgenic mice: characterization of disease and adoptive transfer by TNF- plus IFN-gamma-producing CD4+ T cells that respond to bacterial antigens. *J Immunol* 1999; 162: 1884-8.
- Watanabe M, Watanabe N, Iwao Y y cols. Interleukin 7 transgenic mice develop chronic colitis with decreased interleukin 7 protein accumulation in the colonic mucosa. *J Exp Med* 1998; 187: 389-402.
- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H y cols. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603.
- Chao EC, Lipkin SM. Molecular models for the tissue specificity of DNA mismatch repair-deficient carcinogenesis. *Nucleic Acids Res* 2006; 34: 840-52.
- Scherer SJ, Avdievich E, Edelmann. Functional consequences of DNA mismatch repair missense mutations in murine models and their impact on cancer predisposition. *Mol Biol Colorectal Cancer* 2005; 33: 689-93.
- Edelmann L, Edelmann W. Loss of DNA mismatch repair function and cancer predisposition in the mouse: animal models for human hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Am J Med Genet* 2004; 129C: 91-9.
- McCafferty D-M, Sihota E, Muscara M y cols. Spontaneously developing chronic colitis in IL-10/iNOS double-deficient mice. *Am J Physiol* 2000; 279: G90-9.
- Aranda R, Sydora BC, McAllister PL y cols. Analysis of intestinal lymphocytes in mouse colitis mediated by transfer of CD4+, CD45RBhigh T cells to SCID recipients. *J Immunol* 1997; 158: 3464-73.
- Hoffman RM. Orthopic metastatic mouse models for anticancer drug discovery and evaluation: a bridge to the clinic. *Invest New Drugs* 1999; 17: 343-59.
- Dysplasia and carcinoma development in a repeated dextran sulfate sodium-induced colitis model. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 1078-83.
- Tanaka T, Kohno H, Suzuki R, Yamada Y, Sugie S, Mori H. A novel inflammation-related mouse colon carcinogenesis model induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate. *Cancer Sci* 2003; 94: 965-73.
- Tobi M, Chintalapani S, Kithier K, Clapp N. Gastrointestinal tract antigenic profile of cotton-top tamarin, *Saguinus oedipus*, is similar to that of humans with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2000; 45 :2290-97.
- Berg DJ, Davidson N, Kühn R y cols. Enterocolitis and Colon Cancer in Interleukin-10-Deficient Mice Are Associated with Aberrant Cytokine Production and CD4+ TH-1-like Responses. *J Clin Invest* 1996; 98: 1010-20.
- Shattuck-Brandt R, Varilek GW, Radica A y cols. Cyclooxygenase 2 Expression Is Increased in the Stroma of Colon Carcinomas From IL-10-/- Mice. *Gastroenterology* 2000; 118: 337-45.
- Itzkowitz SH, Yio X. Inflammation and cancer. IV. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: role of inflammation. *Am J Physiol* 2004. 287: G7-17.
- Kobayashi K, Arimura Y, Goto A y cols. Therapeutic implications of the specific inhibition of causative matrix metalloproteinases in experimental colitis induced by dextran sulphate sodium. *J Pathol* 2006; Abs. (on line)
- Ma H, Nguyen C, Lee KS, Kahn M. Differential roles for the coactivators CBP and p300 on TCF/beta-catenin-mediated survivin gene expression. *Oncogene* 2005; 24: 3619-31.
- Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124: 783-801.
- Hamada F, Bienz M. A Drosophila APC tumor suppressor homologue functions in cellular adhesion. *Nat Cell Biol* 2002; 4: 208-213.
- Behrens J, Lustig B. The Wnt connection to tumorigenesis. *Int J Dev Biol* 2004; 48: 477-87.
- Flores C, Engels W. Microsatellite instability in Drosophila spellchecker1 (MutS homolog) mutants. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2964-9.
- Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS, Riddell RH. Experimental Models of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 1995; 109: 1344-1367.
- Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W. Interleukin-10-Deficient Mice Develop Chronic Enterocolitis. *Cell* 1993; 75: 263-74.
- Boletín Oficial del Estado del 21 De Octubre de 2005. Real Decreto 1201/2005.
- Sartor RB. Current concepts of the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1995; 24: 475-507.
- Kim H-S, Berstad A. Experimental colitis in animal models. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27: 529-37.
- Fukuda M, Kanauchi O, Araki Y y cols. Prebiotic treatment of experimental colitis with germinated barley foodstuff: a comparison with probiotic or antibiotic treatment. *Int J Mol Med* 2002; 9: 65-70.
- Kwon KH, Murakami A, Tanaka T, Ohgishi H. Dietary rutin, but not its aglycone quercetin, ameliorates dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in mice: attenuation of pro-inflammatory gene expression. *Biochem Pharmacol* 2005; 69: 395-406.
- Liu C, Russell RM, Smith DE y cols. The effect of dietary glutathione and coenzyme Q10 on the prevention and treatment of inflammatory bowel disease in mice. *Int J Vitam Nutr Res* 2004; 74: 74-85.
- Shimizu T, Igarashi J, Ohtuka Y, Oguchi S, Kaneko K, Yamashiro Y. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E on colonic mucosal leukotriene generation, lipid peroxidation, and microcirculation in rats with experimental colitis. *Digestion* 2001; 63: 49-54.
- Gassull MA, Mañé J, Pedrosa E, Cabré E. Macronutrients and bioactive molecules: is there a specific role in the management of inflammatory bowel disease? *JPEN* 2005; 29: S179-82.
- Onderdonk AB, Bronson R, Cisneros R. Comparison of *Bacteroides vulgatus* strains in the enhancement of experimental ulcerative colitis. *Infect Immun* 1987; 55: 835-6.
- Breeling JL, Onderdonk AB, Cisneros RL, Kasper DL. *Bacteroides vulgatus* outer membrane antigens associated with caerulean-induced colitis in guinea pigs. *Infect Immun* 1988; 56: 1754-9.
- Meenan J, Hommes DW, Mevissen M y cols. Attenuation of the inflammatory response in an animal colitis model by neutrophil inhibitory factor, a novel beta 2-integrin antagonist. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 786-91.
- Grisham MB, Specian RD, Zimmerman TE. Effects of nitric oxide synthase inhibition on the pathophysiology observed in

- a model of chronic granulomatous colitis. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271: 1114-21.
43. Yamada T, Sartor RB, Marshall S, Specian RD, Grisham MB. Mucosal injury and inflammation in a model of chronic granulomatous colitis in rats. *Gastroenterology* 1993; 104: 759-71.
 44. Fitzpatrick LR, Wang J, Le T. Caffeic acid phenethyl ester, an inhibitor of nuclear factor-kappaB, attenuates bacterial peptidoglycan polysaccharide-induced colitis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 299: 915-20.
 45. Hokari R, Kato S, Matsuzaki K y cols. Involvement of mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) in the pathogenesis of granulomatous colitis in rats. *Clin Exp Immunol* 2001; 126: 259-65.
 46. Jeffers M, McDonald WF, Chillakuru RA y cols. A novel human fibroblast growth factor treats experimental intestinal inflammation. *Gastroenterology* 2002; 123: 1151-62.
 47. Bucy RP, Xu XY, Li J, Huang GQ. Cyclosporin A-induced autoimmune disease in mice. *J Immunol* 1993; 151: 1039-1050.
 48. Kawaguchi-Miyashita M, Nanno M, Shimada S y cols. A step-wise expansion of intestinal intraepithelial T lymphocytes in association with microbial colonization is defined by sensitivity to cyclosporin A. *Immunol* 1997; 91: 628-34.
 49. Robert A, Asano T. Resistance of germ free rats to indomethacin-induced intestinal lesions. *Prostaglandins* 1977; 14: 333-341.
 50. Cheng L, Araki K, Furuya Y y cols. Morphological study of the regeneration mechanism of acetic acid-injured colon crypts in the rat. *Med Electron Microsc* 2000; 33: 165-71.
 51. Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795-803.
 52. Palmen MJ, Dijkstra CD, van der Ende MB, Pena AS, van Rees EP. Anti-CD11b/CD18 antibodies reduce inflammation in acute colitis in rats. *Clin Exp Immunol* 1995; 101: 351-6.
 53. Grisham MB, Ware K, Gilleland HE Jr, Gilleland LB, Abell CL, Yamada T. Neutrophil-mediated nitrosamine formation: role of nitric oxide in rats. *Gastroenterology* 1992; 103: 1260-6.
 54. Cogswell JP, Scott DW. Role of self carriers in the immune response and tolerance. XII. Effect of epitope density and antigen-presenting cell phenotype on the presentation of hapten-modified self for the induction of immunity or tolerance in vitro. *Cell Immunol* 1988; 114: 71-82.
 55. Bertran X, Mane J, Fernandez-Banares F y cols. Intracolonic administration of zileuton, a selective 5-lipoxygenase inhibitor, accelerates healing in a rat model of chronic colitis. *Gut* 1996; 38: 899-904.
 56. Triantafyllidis JK, Papalois AE, Parisi A y cols. Favorable response to subcutaneous administration of infliximab in rats with experimental colitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6843-7.
 57. Andoh A, Tsujikawa T, Ishizuka I y cols. N-3 fatty acid-rich diet prevents early response of interleukin-6 elevation in trinitrobenzene sulfonic acid-induced enteritis. *Int J Mol Med* 2003; 12: 721-5.
 58. Shoda R, Matsueda K, Yamato S, Umeda N. N-3 fatty acid-rich diet prevents early response of interleukin-6 elevation in trinitrobenzene sulfonic acid-induced enteritis. *Int J Mol Med* 2003; 12: 721-5.
 59. Isozaki Y, Yoshida N, Kuroda M y cols. Effect of a novel water-soluble vitamin E derivative as a cure for TNBS-induced colitis in rats. *Int J Mol Med* 2006; 17: 497-502.
 60. Lorén V, Mañé J, Pedrosa E y cols. La administración de lactobacillus fermentum (LF) después de la inducción de la colitis por en ratones balb/c mejora la evolución de la lesión colónica. *Gastroenterol Hepatol* 2006; 29: 188 (Abstract).
 61. Cherbut C, Michel C, Lecannu G. The prebiotic characteristics of fructooligosaccharides are necessary for reduction of TNBS-induced colitis in rats. *J Nutr* 2003; 133: 21-7.
 62. Sundberg JP, Elson CO, Bedigian H, Birkenmeier EH. Spontaneous, heritable colitis in a new substrain of C3H/HeJ mice. *Gastroenterology* 1994; 107: 1726-35.
 63. Hacquard-Bouder C, Ittah M, Breban M. Animal models of HLA-B27-associated diseases: new outcomes. *Joint Bone Spine* 2006; 73: 132-8.
 64. Takahashi I, Lijima H, Kishi D, Kiyono H. Oligoclonal Th2-biased betabeta T cells induce murine inflammatory bowel disease. *Immunol Res* 1999; 20: 237-42.
 65. Strober W, Ehrhardt RO. Chronic Intestinal Inflammation: An Unexpected Outcome in Cytokine or T Cell Receptor Mutant Mice. *Cell* 1993; 75: 203-205.
 66. Rudolph U, Finegold MJ, Rich SS y cols. Ulcerative Colitis and adenocarcinoma of the colon in G_{α2}-deficient mice. *Nature Genet* 1995; 10: 141-8.
 67. Berg LJ, Finkelstein LD, Lucas JA, Schwartzberg PL. Tec family kinases in T lymphocyte development and function. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 549-600.
 68. Hornquist CE, Lu X, Rogers-Fani PM y cols. G(α)2-deficient mice with colitis exhibit a local increase in memory CD4+ T cells and proinflammatory Th1-type cytokines. *J Immunol* 1997; 158: 1068-77.
 69. Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, Horak I. Ulcerative Colitis-like Disease in Mice with a Disrupted Interleukin-2 Gene. *Cell* 1993; 75: 253-61.
 70. Kobayashi M, Kweon MN, Kuwata H y cols. Toll-like receptor-dependent production of IL-12p40 causes chronic enterocolitis in myeloid cell-specific Stat3-deficient mice. *J Clin Invest* 2003; 111: 1297-308.
 71. Spencer SD, Di Marco F, Hooley J y cols. The orphan receptor CRF2-4 is an essential subunit of the interleukin 10 receptor. *J Exp Med* 1998; 187: 571-8.
 72. Becker C, Fantini MC, Neurath MF. TGF-beta as a T cell regulator in colitis and colon cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006; 17: 97-106.
 73. Pasparakis M, Alexopoulou L, Episkopou V, Kollias G. Immune and inflammatory responses in TNF alpha-deficient mice: a critical requirement for TNF alpha in the formation of primary B cell follicles, follicular dendritic cell networks and germinal centers, and in the maturation of the humoral immune response. *J Exp Med* 1996; 184: 1397-411.
 74. Schultz M, Tonkonogy SL, Sellon RK y cols. IL-2-deficient mice raised under germfree conditions develop delayed mild focal intestinal inflammation. *Am J Physiol* 1999; 276: G1461-72.
 75. Murata Y, Ishiguro Y, Itoh J, Munakata A, Yoshida Y. The role of proinflammatory and immunoregulatory cytokines in the pathogenesis of ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 1995; 30: 56-60.
 76. Rennick DM, Fort MM. Lessons from genetically engineered animal models. XII. IL-10-deficient (IL-10 (-/-) mice and intestinal inflammation. *Am J Physiol* 2000; 278: G829-33.
 77. Shattuck-Brandt RL, Varilek GW, Radhika A, Yang F, Washington MK, DuBois RN. Cyclooxygenase 2 expression is increased in the stroma of colon carcinomas from IL-10 (-/-) mice. *Gastroenterology* 2000; 118: 337-45.
 78. Kullberg MC, Rothfuchs AG, Jankovic D y cols. Helicobacter hepaticus-induced colitis in interleukin-10-deficient mice: cytokine requirements for the induction and maintenance of intestinal inflammation. *Infect Immun* 2001; 69: 4232-41.
 79. Berg DJ, Zhang J, Weinstock JV y cols. Rapid development of colitis in NSAID-treated IL-10-deficient mice. *Gastroenterology* 2002; 123: 1527-42.
 80. Madsen KL, Doyle JS, Jewell LD, Tavernini MM, Fedorak RN. Lactobacillus species prevents colitis in interleukin 10 gene-deficient mice. *Gastroenterology* 1999; 116: 1107-14.
 81. Pedrosa E, Mañé J, Lorén V y cols. La incorporación de triglicéridos de cadena media (MCT) al componente lipídico de la dieta mejora la evolución de la colitis y aumenta la apoptosis de las células CD3+ colónicas en ratones IL-10 (-/-). *Gastroenterol Hepatol* 2006; 29: 189 (Abstract).
 82. Trobonjaca Z, Leithauser F, Moller P y cols. MHC-II-independent CD4+ T cells induce colitis in immunodeficient RAG-/- hosts. *J Immunol* 2001; 166: 3804-12.
 83. Wang B, Simpson SJ, Hollander GA, Terhorst C. Development and function of T lymphocytes and natural killer cells after bone marrow transplantation of severely immunodeficient mice. *Immunol Rev* 1997; 157: 53-60.
 84. Simpson SJ, Hollander GA, Mizoguchi E y cols. Expression of pro-inflammatory cytokines by TCR alpha beta+ and TCR

- gamma delta+ T cells in an experimental model of colitis. *Eur J Immunol* 1997; 27: 17-25.
85. Das G, Augustine MM, Das J, Bottomly K, Ray P, Ray A. An important regulatory role for CD4 + CD8 $\alpha\alpha$ T cells in the intestinal epithelial layer in the prevention of inflammatory bowel disease. *PNAS* 2003; 100: 5324-9.
 86. De Winter H, Cheroute H, Kronenberg M. Mucosal immunity and inflammation (II). The yin and yang of T cells in intestinal inflammation; pathogenic and protective roles in a mouse colitis model. *Am J Physiol* 1999; 276: G1317-21.
 87. Davidson NJ, Leach MW, Fort MM y cols. T helper cell 1-type CD4+ T cells, but not B cells, mediate colitis in interleukin 10-deficient mice. *J Exp Med* 1996; 184: 241-51.
 88. Bregenholt S, Brimnes J, Reimann J, Claesson MH. Accumulation of immunoglobulin-containing cells in the gut mucosa and presence of faecal immunoglobulin in severe combined immunodeficient (scid) mice with T cell-induced inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol* 1998; 114: 19-25.
 89. Reddy BS. Studies with Azoxymethane-rat preclinical model for assessing colon tumor development and chemoprevention. *Environ Mol Mutagen* 2004; 44: 26-35.
 90. Takahashi M, Wakabayashi K. Gene mutations and altered gene expression in the azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rodents. *Cancer Sci* 2004; 95: 475-480.
 91. Pretlow TP, Pretlow TG. Mutant KRAS in aberrant crypt foci (AFC): Initiation of colorectal cancer? *Biochim Biophys Acta* 2005; 1756: 83-96.
 92. Bartoli R, Fernández-Banares F, Navarro E y cols. Effect of olive oil on early and late events of colon carcinogenesis in rats: modulation of arachidonic acid metabolism and local prostaglandin E(2) synthesis. *Gut* 2000; 46: 191-9.
 93. Yamada Y, Mori H. Pre-cancerous lesions for colorectal cancers in rodents: a new concept. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1015-9.
 94. Nakagama H, Nakanishi M, Ochiai M. Modeling human cancer in rodents using a food-borne carcinogen, PhIP. *Cancer Sci* 2005; 96: 627-36.
 95. Moser AR, Pitot HC, Dove WF. A dominant mutation that predisposes to multiple intestinal neoplasia in the mouse. *Science* 1990; 247: 322-24.
 96. Voskoglou-Nomikos T, Pater JL, Seymour L. Clinical predictive value of the *in vitro* cell line, human xenograft, and mouse allograft preclinical cancer models. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4227-39.

Revisión

Modelos experimentales sobre shock hemorrágico

J. L. Mauriz*, J. Martín Renedo*, J. P. Barrio*, J. M. Culebras** y P. González*

*Instituto de Biomedicina. Universidad de León. **Servicio de Cirugía. Complejo Asistencial de León. SACYL. León. España.

Resumen

En este trabajo se describe la fisiopatología y potenciales tratamientos del shock hemorrágico, situación que se produce por una rápida y significativa pérdida de volumen intravascular.

El shock hemorrágico se inicia con una inestabilidad hemodinámica, descenso en el aporte y perfusión de oxígeno a los tejidos, lo que induce hipoxia celular. Una de las complicaciones más usuales es el daño multiorgánico, debido a un proceso sistémico inflamatorio que afecta a los órganos vitales y que puede conducir a la muerte del individuo. También, se ha descrito un incremento en la activación de los macrófagos por translocación bacteriana y por la propia isquemia/reperfusión. Además, la activación de las células de Kupffer favorece la liberación de citoquinas, radicales libres y óxido nítrico que pueden llevar a un empeoramiento del cuadro. En los últimos años se han llevado a cabo investigaciones para profundizar en el conocimiento de la fisiopatología y potenciales tratamientos del shock hemorrágico. Diferentes estudios han mostrado efectos positivos por la administración de antioxidantes, aminoácidos o lípidos en este tipo de shock.

(Nutr Hosp. 2007;22:190-8)

Palabras clave: Aminoácido. Antioxidante. Shock hemorrágico. Estrés oxidativo.

EXPERIMENTAL MODELS ON HEMORRHAGIC SHOCK

Abstract

This review addresses the pathophysiology and treatment of hemorrhagic shock, a condition produced by rapid and significant loss of intravascular volume.

Hemorrhagic shock may lead sequentially to hemodynamic instability, decreases in oxygen delivery, decreased tissue perfusion and cellular hypoxia. Multiple organ failure, a systemic inflammatory process that leads to dysfunction of different vital organs, is a frequent complication after hemorrhagic shock and accounts for a high incidence of mortality. The pathogenesis of organ injury secondary to hypovolemic insults is still not completely understood, but both experimental studies and clinical observations indicate that macrophages are activated by translocated endotoxin-bacteria and ischemia/reperfusion. Activated Kupffer cells release pathologically active substances such as inflammatory cytokines, reactive oxygen species, and nitric oxide, all of which may participate in the mechanisms of hemorrhagic shock. Moreover, increased free radical production during hemorrhagic shock and resuscitation gives place to an increase in oxidative stress that would contribute to the organ damage. In the last few years, a number of experiments have been performed in an attempt to understand the pathophysiology and treatment of hemorrhagic shock. Different studies have shown positive effects on hemorrhagic shock treatment by antioxidant, amino acid, and lipid administration.

(Nutr Hosp. 2007;22:190-8)

Key words: Amino acid. Antioxidant. Hemorrhagic Shock. Oxidative stress.

Correspondencia: José Luis Mauriz, PhD

Instituto de Biomedicina
Universidad de León
Campus de Vegazana, s/n
24071 León
E-mail: jl.mauriz@unileon.es

Recibido: 30-X-2006.

Aceptado: 21-I-2007.

Introducción

El daño multiorgánico es un proceso inflamatorio sistémico que origina la disfunción de diferentes órganos vitales y es una frecuente complicación después de shock hemorrágico que se presenta con alta incidencia y mortalidad¹. Se ha descrito que los pulmones constituyen una de las más importantes dianas del da-

ño orgánico durante el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y el consiguiente síndrome de disfunción multiorgánica (MODS), sin embargo no ha sido hasta mediados de los años 80 y comienzos de los 90 cuando ha quedado puesto de manifiesto el papel del hígado tras shock hemorrágico.

La disfunción hepática juega un papel central y puede persistir en aquellos casos en los que ha sido posible revertir el shock². Aunque durante las tres últimas décadas se han llevado a cabo numerosos estudios sobre los mecanismos y consecuencias del daño hepático tanto en modelos humanos como animales, éstos no se conocen aún de una manera fiable y completa y la terapéutica utilizada debería ser mejorada.

El daño originado por isquemia/reperfusión parece jugar un papel central en la disfunción y fallo hepático después de shock hemorrágico y resucitación³. Tanto los estudios experimentales como las observaciones clínicas indican que la activación de los macrófagos conduce a la liberación de sustancias patológicas tales como citoquinas inflamatorias, especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido nítrico que participan en el mecanismo de shock hemorrágico. El objetivo principal de este artículo es ofrecer una revisión de diferentes modelos utilizados para el estudio del shock hemorrágico y la utilidad clínica, especialmente en el campo de la nutrición.

Fisiopatología del shock hemorrágico

El shock es un síndrome clínico que se produce como consecuencia de una perfusión inadecuada de los tejidos. Con independencia de la causa, el desequilibrio entre el aporte y las necesidades de oxígeno y sustratos inducido por la hipoperfusión provoca una disfunción celular. La lesión celular debida al suministro inadecuado de oxígeno y sustratos desencadena también la producción y liberación de mediadores de la inflamación.

El shock puede ser producido por un descenso en el gasto cardíaco (cardiogénico), por sepsis (distributivo) o por descensos en el volumen intravascular (hipovolémico o hemorrágico). La causa última puede estar relacionada con una deshidratación, con pérdida severa de fluidos o por una rápida y sustancial pérdida de sangre⁴. En la tabla I aparecen recogidas las causas más frecuentes de shock hemorrágico en la clínica.

El concepto de shock hemorrágico se puede definir como una extravasación del contenido del sistema circulatorio, produciendo una disminución en la presión sanguínea, con la consiguiente disminución de la sangre, y por tanto del oxígeno, que llega a los distintos órganos y tejidos, pudiendo conducir al fallecimiento del individuo si no se controla, ya que se desencadenan una serie de procesos que llevan finalmente al fallo multiorgánico.

Según la clasificación del American College of Surgeons las pérdidas de sangre se pueden dividir en cuatro categorías⁵:

Tabla I
Principales causas de shock hemorrágico

<i>Origen</i>	<i>Ejemplo</i>
Trauma	Ruptura de grandes vasos Heridas penetrantes en abdomen y tórax Laceraciones
Hemorragia gastrointestinal	Varices esofágicas Úlcera gástrica Gastritis Úlcera duodenal Cáncer de colon
Pulmonar	Embolismo pulmonar Cáncer de pulmón Tuberculosis Aspergilosis Síndrome de Goodpasture
Obstétrico/ginecológico	Placenta previa Embarazo ectópico Desprendimiento prematuro de la placenta (abruptio placentae)
Otros	Ruptura de aneurismas, coagulopatías, terapia antitrombótica, etc.

– Clase I: Pérdida de un 15% o menos del volumen sanguíneo, pudiéndose llegar a apreciar taquicardia en reposo que aparece primero en posición de pie. Esta “taquicardia ortostática” se define como un aumento de la frecuencia cardíaca de al menos 20 latidos/minuto. No se observan síntomas en el sistema nervioso central.

– Clase II: Pérdida de 15-30% del volumen sanguíneo. El principal hallazgo clínico en esta etapa es la hipotensión ortostática de al menos 15 mmHg. Existe además un incremento importante de la taquicardia.

– Clase III: Pérdida del 30-40% del volumen sanguíneo. En esta etapa hay hipotensión, así como oliguria (menos de 400 ml/24 horas) y taquicardia. El individuo comienza a sentirse confuso.

– Clase IV: Pérdida de más del 40% del volumen sanguíneo. Esta es una condición grave, que puede conducir a hipotensión profunda y colapso cardiovascular. El individuo entra en una profunda letargia.

Cuando el shock ha progresado hasta un determinado estadio, la transfusión, o cualquier otro tipo de terapéutica, ya no podrá salvar la vida del individuo. Nos hallamos en la etapa irreversible del shock. El mecanismo específico involucrado en la fisiopatología de la hemorragia aún no está completamente definido. El shock hemorrágico produce un estrés oxidativo en

las células e induce una respuesta inflamatoria generalizada con aumento en la expresión de mediadores proinflamatorios y citoquinas⁶.

Alteraciones hepáticas producidas por shock hemorrágico

En el shock hemorrágico podemos distinguir dos fases: una primera fase de isquemia, donde el daño se produce por hipoxia tisular, y una segunda fase en la que se produce una alteración en los tejidos debido, al menos en parte, a la producción de especies reactivas del oxígeno y de nitrógeno.

En el periodo de isquemia, cuando se produce una reducción suficiente del volumen sanguíneo las células no obtienen la cantidad adecuada de oxígeno de la sangre, alterándose la cadena de transporte de electrones mitocondrial y produciendo la alteración del balance redox de las enzimas mitocondriales⁷. Esta secuencia de sucesos llega finalmente a la parada de la fosforilación oxidativa, conduciendo a la disminución de la producción de ATP⁸. Tal reducción hace que no pueda funcionar la bomba Na⁺/K⁺ ATPasa, alterándose el balance iónico celular. Con la afuncionalidad de la bomba de Na⁺/K⁺ se produce una entrada descontrolada de Na⁺ en la célula, con el consiguiente ingreso masivo de agua en la misma⁹, produciendo, por tanto, un edema celular. Junto con este proceso, también falla la bomba Ca²⁺ ATPasa del retículo endoplásmico, aumentando la concentración de Ca²⁺ intracitoplasmático, lo que conduce a la activación de fosfolipasas de membrana (fosfolipasa A2, entre otras) que van a destruir la membrana celular¹⁰.

La disminución del oxígeno que llega a los tejidos también es capaz de inducir la producción celular del factor inducible por hipoxia (HIF-1). Muchos genes poseen sitios de unión para HIF-1, como la eritropoyetina (EPO), el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), la hemo oxigenasa (HO-1) y la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) entre otros, junto con enzimas de la vía glucolítica¹¹. Así, las células intentan responder a la hipoxia, con la creación de un mayor lecho vascular, una mayor cantidad de eritrocitos, la dilatación de los vasos sanguíneos y un mayor metabolismo, aunque sea anaeróbico, para conseguir ATP.

En la posterior fase de reperfusión, tras la isquemia producida por el shock hipovolémico, se van a producir toda una serie de procesos que van a conducir al aumento del estrés oxidativo y nitrosativo tisular pudiendo llegar a un fallo multiorgánico. Por tanto, la fase de reperfusión es más dañina para los tejidos que la previa fase de isquemia⁷. Durante esta fase, y debido a la activación del complemento, se movilizan y reclutan los linfocitos T CD4⁺. Estos dos procesos permiten la activación del sistema monocito macrófago^{12,13}. La activación de los macrófagos conduce a la formación de ROS en los vasos y también a la producción de factor de necrosis tumo-

ral alfa (TNF α) e interleucina 1 (IL-1)^{13,14}. En concreto en el hígado, la activación de las células de Kupffer, los macrófagos residentes del hígado, conduce a la producción de prostaglandinas, factor activador de plaquetas (PAF), IL-1, TNF α , IL-6, interferón gamma (IFN γ) y ROS. Esta producción de sustancias actúa sobre otras células de Kupffer, células endoteliales y polimorfonucleares (PMN)^{15,16}. La liberación de TNF α conduce a un incremento en la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales y la síntesis de quimioquinas dirigidas a PMN, produciendo su reclutamiento^{17,18}. Los PMN, junto con las células endoteliales, tras su activación, expresan moléculas de adhesión celular para llegar a una adhesión de los PMN a las células endoteliales, seguida de una extravasación de los mismos¹⁹. Tras su extravasación elaboran y secretan elastasas, serin-proteasas, metaloproteinasas y ROS¹², contribuyendo aun más al daño tisular.

Los principales ROS son el anión superóxido, el radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno²⁰, siendo sus fuentes la enzima xantina oxidasa citosólica, las células de Kupffer y los PMN adherentes¹⁷. La formación y liberación de ROS constituye un importante mecanismo de daño tisular, durante la isquemia-reperfusión, aunque se relaciona con la transducción de señales durante el mecanismo inflamatorio^{16,17}.

En cuanto al óxido nítrico (NO) se genera en los tejidos por medio de tres enzimas denominadas de forma colectiva NOS. La forma inducible de esta enzima se activa en shock hipovolémico y se mantiene durante la resucitación, contribuyendo a la secreción de citoquinas¹. Durante esta fase se va a dar una situación de inflamación generalizada, conduciendo finalmente al daño tisular y al fallo orgánico. Se ha descrito la activación de un receptor denominado TLR-4 (del inglés *toll-like receptor* 4) que parece relacionado con la producción de TNF α durante la fase de inflamación, estudios realizados inhibiendo dicha activación o con animales mutantes TLR4^{-/-} muestran una reducción en la síntesis de TNF α y en el daño orgánico tanto a nivel hepático como cardíaco²¹.

Función del calcio en el shock hemorrágico

Rose y cols. demostraron que el shock hemorrágico y los procesos de resucitación alteran el sistema de señales del Ca²⁺ produciendo una sobrecarga intracelular de este ión como resultado del desequilibrio del movimiento del Ca²⁺ transmembrana, aumentando su influjo y reduciendo su expulsión²².

El daño producido por los fenómenos de isquemia/reperfusión en varios órganos modifica la homeostasis intracelular del Ca²⁺ y altera las vías metabólicas Ca²⁺ dependientes²³. Además, la activación mediada por el Ca²⁺ de enzimas potencialmente peligrosas como fosfolipasas, proteasas y endonucleasas produce una rotura de la integridad celular que conduce a la muerte celular²⁴.

Una amplia variedad de mediadores endocrinos (catecolaminas, vasopresina, glucagón, angiotensina II) e inmunes (TNF α , PAF, factores de crecimiento, eicosanoides), son liberados durante el shock, e incrementan potencialmente la entrada de Ca²⁺ intracelular y su movilización desde el retículo endoplasmático. Los leucocitos polimorfonucleares, las células de Kupffer y las células endoteliales son una fuente potencial de ROS y de varios mediadores inflamatorios (TNF α , PAF, interleuquina-1) involucrados en el daño hepático producido por los fenómenos de isquemia/reperfusión(I/R)²⁵. La entrada de calcio al hepatocito durante los períodos de isquemia/reperfusión puede ocurrir no sólo a través de un receptor que activa los canales de Ca²⁺, sino también a través de un aumento pasivo de entrada de Ca²⁺ a través de la membrana²⁶.

Modelos animales de shock hemorrágico

Son muchos los animales de laboratorio que se han utilizado para estudiar los mecanismos implicados en el desarrollo del shock hemorrágico. Entre ellos podemos citar la rata, ratón, conejo, cobaya, cerdo, perro o primate. Existen dos tipos de procedimiento básicos de inducción. El primer método más antiguo, método de volumen constante, consiste en la retirada de un volumen determinado de sangre del animal, dicho volumen es calculado generalmente en función del peso o de la superficie corporal²⁷⁻²⁹. El principal inconveniente de este método, es que frecuentemente hay que cesar la hemorragia antes de extraer el volumen de sangre deseado³⁰. El segundo, y actualmente más utilizado método de shock hemorrágico, es aquel que podemos denominar de presión constante, donde se controla la presión sanguínea a través de una cánula insertada en la arteria femoral derecha³¹ o en la cola del animal^{32,33} mediante un analizador de presión. En ambos métodos se procede a la canulación de dos vasos, generalmente la arteria carótida y la vena yugular izquierdas, para poder realizar el control de la velocidad, de volumen de sangrado y de la reperfusión, pudiendo a través de este método, mantener una presión de hipotensión constante³⁰.

Rothe en 1970, en un estudio realizado con perros sometidos a diversos grados de hemorragia, en los que se siguió el curso de la presión arterial en el shock hemorrágico, observó que los animales que no bajaron de 45 mmHg acabaron por recuperarse más pronto o más tarde, dependiendo del descenso de la presión. Sin embargo, cuando la presión se mantuvo por debajo de 45 mmHg todos murieron³⁴. Con ello se demuestra que el sistema circulatorio puede recuperarse mientras el grado de hemorragia no sea mayor de cierta cifra crítica, sin embargo, una vez cruzado este valor crítico, una variación mínima de presión puede establecer la diferencia entre la vida y la muerte. La hemorragia más allá de cierto valor crítico hace que el shock se vuelva progresivo. En definitiva, el propio shock origina un shock más intenso.

Animales transgénicos en el estudio del shock hemorrágico

En muchas patologías se utilizan animales modificados genéticamente, también llamados animales transgénicos, para comprobar los efectos que un gen determinado, incorporado o eliminado, del genoma produce en la citada patología. La enzima superóxido dismutasa (SOD) es la enzima encargada de eliminar o neutralizar el anión superóxido, pero no puede penetrar en la célula a través de la membrana cuando se realiza una administración exógena lo que conlleva que sea prácticamente imposible inducir modificaciones en la actividad de la SOD.

En 1987 Epstein y cols.³⁵ utilizaron un ratón transgénico que sobre-expresaba Cu,Zn-SOD en el citoplasma. Descendientes de estos ratones con 1,8 veces de incremento de la actividad SOD fueron utilizados posteriormente y sometidos a un proceso de isquemia/reperfusión (durante 15 minutos se les induce una isquemia parcial hepática del 70% seguida por un período de reperfusión de 45 minutos). Posteriormente se aislaron los hepatocitos de ambos grupos de animales y se sometieron a un medio anaerobio (90 minutos) y un período de oxigenación (2 horas). Se observó un incremento de la concentración plasmática de ALT y de la concentración hepática de hidroperóxido de fosfatidilcolina (PCOOH) que es un parámetro indicador de alteración celular hepática, en los ratones normales sin embargo se suprimían estos incrementos en los animales transgénicos. Estos resultados sugieren que la producción intracelular del anión superóxido está implicada en el mecanismo patológico hepático producido por isquemia/reperfusión. Y la posibilidad de eliminar intracelularmente este ión puede contribuir a la prevención del daño originado por la reperfusión.

Varios estudios han indicado que el óxido nítrico (NO) derivado de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) es una importante molécula de señalización en el daño por isquemia/reperfusión. Duranski y cols.³⁶ en 2006 utilizaron ratones transgénicos con sobreexpresión de eNOS (ENOS-TG) sometidos durante 45 minutos a isquemia hepática, seguidos de 5 horas de reperfusión y observaron que estos animales transgénicos estaban protegidos frente al daño hepático originado por isquemia/reperfusión sugiriendo que la protección en los animales eNOS-TG puede estar mediada por la vía guanilato ciclasa e independiente de la vía de hemoxigenasa.

La apoptosis es un mecanismo central originado durante la reperfusión en el hígado. Se han realizado experimentos de isquemia /reperfusión con animales transgénicos presentado sobreexpresión de Bcl-2, indicando que estos animales son resistentes al daño al inhibirse la apoptosis³⁷.

Modelos celulares de shock hemorrágico

Se han utilizado varios tipos de células como células de Kupffer, endoteliales o hepatocitos para evaluar

muchas de las alteraciones que se producen a nivel celular y molecular durante el proceso de isquemia/reperfusión, una vez inducido el daño celular se puede evaluar la influencia de diferentes agentes farmacológicos.

En células endoteliales de hígado humano se ha valorado la eficacia de distintas soluciones de preservación en el trasplante de órganos torácicos, así se ha observado que es más beneficioso que el medio contenga una concentración alta de ATP después de la isquemia y reperfusión³⁸.

Exponiendo a hepatocitos humanos normales de la línea HL-7702 a hipoxia durante 5 horas y posterior reoxigenación, se observa un importante incremento de la expresión del receptor de apoptosis³⁹.

Wang y cols.⁴⁰ utilizaron células endoteliales de pulmón de ratón de la línea MLCE a las que indujeron hipoxia administrando 95% N₂, 5% CO₂ durante 24 horas. Para la fase de reoxigenación administraron 95% de aire y 5% de CO₂ durante varios intervalos. Cuando las células eran transfectadas con un vector adenoviral conteniendo un inhibidor de caspasa 8 denominado FLIP se observó una importante reducción de la apoptosis protege tanto por vía intrínseca (dependiente de la mitocondria) como por vía extrínseca (independiente de la mitocondria).

Terapia antioxidante en shock hemorrágico

Los radicales libres son una causa importante del daño inducido por shock hemorrágico y posterior reperfusión. Dado el rol que los radicales libres juegan en el daño inducido a los diversos órganos y tejidos parece interesante la utilización de sustancias antioxidantes. Un gran número de agentes antioxidantes ha sido estudiado durante la última década. Entre los antioxidantes más eficaces en el tratamiento del daño inducido durante el shock hemorrágico y la posterior reperfusión se pueden diferenciar antioxidantes extracelulares, de membrana e intracelulares.

El α -tocoferol, un potente inhibidor de la peroxidación lipídica, es capaz de actuar inactivando directamente radicales libres, incrementando la concentración de glutatión reducido (GSH, el principal antioxidante endógeno no enzimático) e incluso presenta otras propiedades no relacionadas con su actividad antioxidante, como su capacidad para inhibir a la proteína quinasa C⁴¹⁻⁴⁴. En modelos animales de I/R se ha observado una reducción importante en la concentración hepática de α -tocoferol, sobre todo durante la fase de reperfusión⁴⁵. La administración de dosis suprafisiológicas de α -tocoferol (30-300 mg/kg peso corporal) fue capaz de incrementar los niveles de ATP, reducir la peroxidación lipídica y la oxidación del glutatión⁴⁶. Otras sustancias similares, como el Trolox C, un análogo hidrofílico del α -tocoferol, han resultado también beneficiosas en modelos experimentales de shock hemorrágico⁴⁷. Finalmente, la combinación de α -tocoferol y pentoxifilina, un fármaco

usado en el tratamiento de la enfermedad vascular periférica, es capaz de reducir el daño por I/R y aumentar la supervivencia⁴⁸.

Se han realizado estudios con ácido ascórbico, pero los resultados han sido dispares. Así, la utilización de dosis bajas de dicho ácido (< 100 mg/kg peso corporal) parecen tener un efecto protector en el hígado sometido a I/R, mientras que dosis bastante más altas (1 g/kg peso corporal) agravan el daño. Es sobradamente conocido que muchos antioxidantes pueden actuar como pro-oxidantes a dosis muy elevadas o estar relacionados con mecanismos dañinos para el organismo, así altas concentraciones de ácido ascórbico pueden incrementar la reducción del hierro férrico hacia su forma ferrosa incrementando el daño en diversos tejidos como el hígado⁴⁹.

La administración, previa a reperfusión, de una infusión compuesta por un complejo vitamínico conteniendo 10 mg de α -tocoferol y 1 g de ácido ascórbico reduce la peroxidación lipídica, el tiempo de protrombina y la concentración de aminotransferasa en pacientes que van a ser sometidos a reperfusión⁵⁰.

El pretratamiento con coenzima Q o sus análogos parece inhibir la peroxidación lipídica, reducir la generación mitocondrial de radicales libres, prevenir la pérdida post-isquémica de α -tocoferol y glutatión reducido o incluso atenuar el daño mediado por neutrófilos^{51,52}.

El estudio de la melatonina y de sus acciones antioxidantes va ganando importancia. La administración a ratas de diversas dosis de esta hormona, producida de forma endógena principalmente por la glándula pineal, es capaz de reducir la producción de TNF α , inhibir la expresión de iNOS y preservar la producción de ATP a nivel celular⁵³. Además, en estudios ya realizados en humanos, se ha observado que la melatonina incrementa la apoptosis de los neutrófilos activados por la I/R⁵⁴.

Es interesante también indicar que la administración de antioxidantes de origen vegetal, como la quercitina, la cianidina, la catequina o de extractos que los contienen (como extractos de té verde o de *Magnifera indica*) se ha relacionado con reducción de la peroxidación lipídica y del daño a órganos y tejidos⁵⁵.

Como ya se ha indicado previamente, el GSH es el principal antioxidante no enzimático del organismo, pero además sirve de sustrato para la enzima glutatión peroxidasa (que se encuentra tanto en el citosol como en la mitocondria y que es capaz de eliminar H₂O₂). La administración exógena de GSH puede favorecer el mantenimiento de sus niveles intracelulares adecuados, sin embargo es necesario tener en cuenta la dificultad de su captación por parte de las células debido a su elevado tamaño molecular. Se ha observado que dosis de GSH a partir de 100 μ mol/h/kg de peso corporal pueden proteger al hígado frente a la I/R^{56,57}. Otra posibilidad es la administración de precursores del GSH como el N-acetilcisteína (NAC) cuyo tamaño molecular es menor. Los experimentos realizados con

NAC muestran una mejora en la funcionalidad y microcirculación hepáticas después de shock y posterior perfusión⁵⁸. También se han realizado estudios con compuestos de naturaleza tiólica similares al GSH como por ejemplo la bucilamina que muestra resultados esperanzadores en el tratamiento del daño por I/R⁵⁹.

Diferentes autores han indicado que la administración exógena de derivados del sistema antioxidante enzimático podría ser de utilidad, así se han obtenido reducciones en la peroxidación lipídica y en la actividad de las transaminasas (tanto ALT como AST) utilizando derivados de la superóxido dismutasa y de catalasa⁶⁰⁻⁶³.

Terapia génica antioxidante

Con las modernas técnicas de biología molecular se están abriendo nuevos horizontes en el tratamiento del shock hemorrágico. Se han utilizado vectores virales conteniendo los genes que codifican para diversas enzimas antioxidantes. Así, la transfección con diversas isoformas de SOD han mostrado incrementos de la supervivencia cuando se administraba el gen de la SOD citosólica o de la SOD mitocondrial, mientras que la forma extracelular de la SOD no resultaba protectora^{64,65}. El efecto debido a la sobre-expresión del gen de la SOD mitocondrial parece relacionado con mecanismo de inactivación de los factores de transcripción AP-1 y NF-kappa B⁶⁶.

Aminoácidos en la terapia del shock hemorrágico

La administración de aminoácidos en modelos de shock hemorrágico y posterior perfusión presenta diversas ventajas tanto a nivel energético como antioxidante, por todo ello cada vez son más utilizados tanto en la nutrición de pacientes afectados o no por isquemia^{67,68}.

El L-triptófano es un aminoácido esencial que presenta diversos efectos positivos, siendo capaz de reducir el daño en la mucosa gástrica, la producción de radicales libres⁶⁹ y la translocación bacteriana⁷⁰; al menos en parte, estos efectos pueden estar relacionados con que este aminoácido es uno de los precursores del antioxidante melatonina y además puede ser transformado en serotonina en el estómago favoreciendo la motilidad gastrointestinal y la secreción intestinal⁷¹.

La utilización de la glutamina permite el mantenimiento de niveles fisiológicos de ATP hepáticos protegiendo al hígado durante el shock hemorrágico⁷², efecto debido a que el aminoácido actúa tanto como sustrato metabólico como precursor de la síntesis de ATP y que se ha relacionado con una notable reducción de la muerte celular por apoptosis⁷³. La glutamina administrada en forma de dipéptidos como la alanil-L-glutamina y/o glicil-L-glutamina es capaz de revertir el daño inducido por shock hemorrágico en la mucosa del estómago⁷⁴ y favorece el mantenimiento de la inte-

gridad intestinal⁷⁵. Además, el dipéptido alanil-glutamina es capaz de reducir la expresión de los genes de la iNOS, IL-1 β y TNF α responsables en gran medida del daño inducido por shock hemorrágico⁷⁶.

La administración del aminoácido no esencial de menor peso molecular, la glicina, parece ser útil para el tratamiento de la hepatitis, el shock endotóxico u otras patologías inflamatorias, y tiene un efecto protector contra el daño multiorgánico causado por shock hemorrágico y la posterior perfusión, minimizando los cambios histopatológicos y reduciendo la mortalidad⁷⁷. Además, nuestro grupo de investigación ha demostrado que la glicina, cuando es administrada de forma oral antes de la inducción del shock hemorrágico, es capaz de inducir una reducción del estrés oxidativo y menor peroxidación lipídica, efecto seguramente debido a un incremento de la actividad de las enzimas antioxidantes (SOD citosólica y mitocondrial, catalasa y glutatión peroxidasa), el mantenimiento de la concentración fisiológica de GSH, la inhibición de la expresión de la iNOS y el bloqueo de la activación del factor de transcripción NF-kappa B³².

Otros autores han descrito efectos beneficiosos al administrar glicina junto con metilprednisolona, con incrementos en la supervivencia de los animales y reducción del daño orgánico. Dichos efectos parecen relacionados con la reducción en la activación de las células de Kupffer, la menor producción de TNF α y la prevención del incremento de Ca²⁺ intracelular^{78,79}.

Lípidos en la terapia del shock hemorrágico

Como es bien conocido el shock hemorrágico conduce a un fallo en la barrera intestinal, produciendo la translocación bacteriana y por tanto la sepsis⁸⁰. La endotoxemia producida por las bacterias, induce un incremento en la producción de citoquinas inflamatorias, conduciendo a un mayor daño de la barrera intestinal. Además, la hipotensión debida a la pérdida de sangre empeora todo el cuadro⁸¹.

A pesar de existir muy pocos estudios utilizando lípidos para el tratamiento del daño inducido por shock hemorrágico, parece que éstos podrían tener un potencial efecto beneficioso. Así, por un lado se ha descrito que la administración de dietas ricas en grasas incrementa la secreción de sales biliares que actúan como inhibidores de las endotoxinas^{81,82}. Por otro, las lipoproteínas con alto contenido en triacilglicerol, como los quilomicrones, son capaces de neutralizar a las endotoxinas^{83,84}, estando mediado este proceso a través de la proteína de unión a lipopolisacárido (LBP) y apolipoproteínas⁸⁵⁻⁸⁷. Estudios realizados en modelos de shock hemorrágico indican que las VLDL y los quilomicrones son capaces de englobar en su interior a las endotoxinas, lo que favorece la captación de dichas endotoxinas por parte de los hepatocitos, evitando su acción directa sobre las células de Kupffer y por ello induciendo una reducción en la secreción de TNF α y en el mecanismo inflamatorio⁸⁸⁻⁹⁰.

Agradecimientos

Los experimentos realizados por nuestro grupo sobre la fisiopatología y tratamiento del shock hemorrágico han sido subvencionados en parte con la ayuda económica de la empresa Novartis Nutrition AG.

Referencias

- Zhong Z, Enomoto N, Connor HD, Moss N, Mason RP, Thurman RG. Glycine improves survival after hemorrhagic shock in the rat. *Shock* 1999; 12: 54-62.
- Wang P, Ayala A, Dean RE y cols. Adequate crystalloid resuscitation restores but fails to maintain the active hepatocellular function following hemorrhagic shock. *J Trauma* 1991; 31: 601-607.
- Clemens MG, Bauer M, Gingalewski C, Miescher E, Zhang J. Hepatic intracellular communication in shock and inflammation. *Shock* 1994; 2: 1-9.
- Gutiérrez G, Reines HD, Wulf-Gutiérrez ME. Clinical Review: hemorrhagic shock. *Crit Care* 2004; 8: 373-381.
- Committee on Trauma: Advanced Trauma Life Support Manual. Chicago. *American Collage of Surgeons* 1997; 103-112.
- Shenkar R, Coulson WF, Abraham E. Hemorrhage and resuscitation induce alterations in cytokine expression and the development of acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994; 10: 290-297.
- Glantzounis GK, Slacinski HJ, Wenxuan Y, Davidson BR, Feifalina AM. The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemia-reperfusion injury: a review. *Liver Transpl* 2005; 9: 1031-1047.
- Yamakawa Y, Takano M, Patel M, Tien N, Takada T, Bulkley GB. Interaction of platelet activating factor, reactive oxygen species generated by xanthine oxidase, and leukocytes in the generation of hepatic injury after shock/resuscitation. *Ann Surg* 2000; 231: 387-398.
- Blum H, Osbakken MD, Johnson RG, Jr. Sodium flux and bioenergetics in the ischemic rat liver. *Magn Reson Med* 1991; 18: 384-357.
- Farber JL. The role of calcium in cell death. *Life Sci* 1981; 29: 1289-1295.
- Guillemin K, Krasnow MA. The hypoxic response: huffing and HIFing. *Cell* 1997; 89: 9-12.
- Fondevila C, Busuttill RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury-a fresh look. *Exp Mol Pathol* 2003; 74: 86-93.
- Lentsch AB, Kato A, Yohidome H, McMasters KM, Edwards MJ. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm epatic ischemia reperfusion injury. *Hepatology* 2000; 32: 169-173.
- Liu TZ, Lee KT, Chern CL, Cheng JT, Stern A, Tsai LY. Free radical triggered hepatic injury of experimental obstructive jaundice of rats involves overproduction of porinflammatory cytokines and enhanced activation of nuclear factor kappab. *Ann Clin Lab Sci* 2001; 31: 383-390.
- Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells) *Eur J Biochem* 1990; 192: 245-261.
- Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanaka Y, Thurman RG, Lemasters JJ. Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rat livers: effects of reperfusion. *Hepatology* 1991; 13: 83-95.
- Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol*. 2000; 15: 718-724.
- Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320: 365-376.
- Granger DN, Kubes P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *J Leukoc Biol* 1994; 55: 662-675.
- Rauen U, Polzar B, Stephan H, Mannherz HG, De Groot H. Cold-induced apoptosis in cultured hepatocytes and liver endothelial cells: mediation by reactive oxygen species. *FASEB J* 1999; 13: 155-168.
- Mollen KP, Anand RJ, Tsung A, Prince JM, Levy RM, Billiar TR. Emerging paradigm: toll-like receptor 4-sentinel for the detection of tissue damage. *Shock* 2006; 26: 430-437.
- Rose S, Pizanis A, Silomon M. Altered hepatocellular Ca²⁺ regulation during hemorrhagic shock and resuscitation. *Hepatology* 1997; 25: 379-384.
- Cheung JY, Bonventre JV, Malis CD, Leaf A. Calcium and ischemic injury. *N Engl J Med* 1986; 314 (26): 1670-1676.
- Trump BF, Berezesky IK. Calcium-mediated cell injury and cell death. *FASEB J* 1995; 9: 219-228.
- Colletti LM, Kunkel SL, Walz A y cols. The role of cytokine networks in the local liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat. *Hepatology* 1996; 23: 506-514.
- Rose S, Sayeed. Superoxide radical scavenging prevents cellular calcium dysregulation during intraabdominal sepsis. 1: *Shock* 1997; 7: 263-268.
- Burdette, WJ. Oxygen consumption of cardiac muscle during shock. *Am J Physiol* 1952; 168: 575-583.
- Schwartz TB. Proteolytic activity and protein metabolism of rat diaphragm in hemorrhagic shock. *Proc Soc Exptl Bio Med* 1953. 83; 362-367.
- Strawitz JG, Hift F, Temple RL, Ehrhardt A, Rozansky N. Irreversible hemorrhagic shock in rats: method and critical bleeding volume. *Am J Physiol* 1961; 200: 257-260.
- Steinman R Denstedt OF. Experimental production of hemorrhagic shock in the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1969; 47: 305-310.
- Wang G, Zhao M, Wang EH: Effects of glycine and methylprednisolone on hemorrhagic shock in rats. *Chin Med J* 2004; 117: 1334-1341.
- Mauriz JL, Matilla B, Culebras JM, Gonzalez P, Gonzalez-Gallego J. Dietary glycine inhibits activation of nuclear factor kappa B and prevents liver injury in hemorrhagic shock in the rat. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 1236-1244.
- Mauriz JL, González P, Jorquera F, Olcoz JL, González-Gallego J. Caspase inhibition does not protect against liver damage in hemorrhagic shock. *Shock* 2003; 19: 33-37.
- Rothe CF. Heart failure and fluid loss in hemorrhagic shock. *Fed Proc*. 1970; 29: 1854-1860.
- Epstein CJ, Avraham KB, Lovett M y cols. Transgenic mice with increased Cu/Zn-superoxide dismutase activity: animal model of dosage effects in Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci SA* 1987; 84: 8044-8048.
- Duranski MR, Elrod JW, Calvert JW, Bryan NS, Feelisch M, Lefer DJ. Genetic overexpression of eNOS attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: 2980-2986.
- Selzner M, Rudiger HA, Selzner N, Thomas DW, Sindram D, Clavien PA. Transgenic mice overexpressing human Bcl-2 are resistant to hepatic ischemia and reperfusion. *J Hepatol* 2002; 36: 218-225.
- Janssen H, Janssen PH, Broelsch CE. UW is superior to Celsior and HTK in the protection of human liver endothelial cells against preservation injury. *Liver Transpl* 2004; 10: 1514-1523.
- Cao L, Li Y, Cheng F, Li S, Long D. Hypoxia/reoxygenation up-regulated the expression of death receptor 5 and enhanced apoptosis in human hepatocyte line. 1: *Transplant Proc* 2006; 38: 2207-2209.
- Wang X, Wang Y, Zhang J, Kim HP, Ryter SW, Choi AM. FLIP protects against hypoxia/reoxygenation-induced endothelial cell apoptosis by inhibiting Bax activation. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 4742-4751.
- Brigelius-Flohe R, Kelly FJ, Salonen JT, Neuzil J, Zingg JM, Azzi A. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 703-716.
- Calfree-Mason KG, Spear BT, Glauert HP. Vitamin E inhibits hepatic NF-kappaB activation in rats administered the hepatic tumor promoter, phenobarbital. *J Nutr* 2002; 132: 3178-3185.

43. Masaki H, Okano Y, Ochiai Y, Obayashi K, Akamatsu H, Sakurai H. alpha-tocopherol increases the intracellular glutathione level in HaCaT keratinocytes. *Free Radic Res* 2002; 36: 705-709.
44. Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. The 80th anniversary of vitamin E: Beyond its antioxidant properties. *Biol Chem* 2002; 383: 457-465.
45. Marubayashi S, Dohi K, Yamada K, Kawasaki T. Changes in the levels of endogenous coenzyme Q homologs, alpha-tocopherol, and glutathione in rat liver after hepatic ischemia and reperfusion, and the effect of pretreatment with coenzyme Q10. *Biochim Biophys Acta* 1984; 797: 1-9.
46. Giakoustidis D, Papageorgiou G, Iliadis S y cols. Intramuscular administration of very high dose of alpha-tocopherol protects liver from severe ischemia/reperfusion injury. *World J Surg* 2002; 26: 872-877.
47. Eum HA, Lee SH, Lee SM. Trolox C ameliorates hepatic drug metabolizing dysfunction after ischemia/reperfusion. *Arch Pharm Res* 2002; 25: 940-945.
48. Vardareli E, Saricam T, Koken T, Degirmenci I, Aral E, Erenoglu E. The effect of alpha-tocopherol and pentoxifylline on ischemia-reperfusion induced liver injury in rats. *Hepato-gastroenterology* 1998; 45: 1505-1508.
49. Seo MY, Lee SM. Protective effect of low dose of ascorbic acid on hepatobiliary function in hepatic ischemia/reperfusion in rats. *J Hepatol* 2002; 36: 72-77.
50. Cerwenka H, Khoschsorur G, Bacher H y cols. Normothermic liver ischemia and antioxidant treatment during hepatic resections. *Free Radic Res* 1999; 30: 463-469.
51. Genova ML, Bonacorsi E, D'Aurelio M y cols. Protective effect of exogenous coenzyme Q in rats subjected to partial hepatic ischemia and reperfusion. *Biofactors* 1999; 9: 345-349.
52. Schutz E, Wieland E, Hensel A y cols. Suppression of leukocyte-enhanced cold ischemia/reperfusion injury of liver endothelium with the benzoquinone antioxidant idebenone. *Clin Biochem* 1997; 30: 619-624.
53. Rodríguez-Reynoso S, Leal C, Portilla E, Olivares N, Muniz J. Effect of exogenous melatonin on hepatic energetic status during ischemia/reperfusion: possible role of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide. *J Surg Res* 2001; 100: 141-149.
54. Chen JC, Ng CJ, Chiu TF, Chen HM. Altered neutrophil apoptosis activity is reversed by melatonin in liver ischemia-reperfusion. *J Pineal Res* 2003; 34: 260-264.
55. Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. Flavonoides: propiedades y acción antioxidante. *Nutr Hosp* 2002; 17: 271-278.
56. Schauer RJ, Kalmuk S, Gerbes AL y cols. Intravenous administration of glutathione protects parenchymal and non-parenchymal liver cells against reperfusion injury following rat liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 864-870.
57. Schauer RJ, Gerbes AL, Vonier D y cols. Glutathione protects the rat liver against reperfusion injury after prolonged warm ischemia. *Ann Surg* 2004; 239: 220-231.
58. Boman G, Backer U, Larsson S, Melander B, Wahlander L. Oral acetylcysteine reduces exacerbation rate in chronic bronchitis: report of a trial organized by the Swedish Society for Pulmonary Diseases. *Eur J Respir Dis* 1983; 64: 405-415.
59. Amersi F, Nelson SK, Shen XD y cols. Bucillamine, a thiol antioxidant, prevents transplantation-associated reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 8915-8920.
60. Nguyen WD, Kim DH, Alam HB, Provido HS, Kirkpatrick JR. Polyethylene glycol-superoxide dismutase inhibits lipid peroxidation in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Crit Care* 1999; 3: 127-130. Links
61. Nordstrom G, Saljo A, Hasselgren PO. Studies on the possible role of oxygen-derived free radicals for impairment of protein and energy metabolism in liver ischemia. *Circ Shock* 1988; 26: 115-126.
62. Tanaka J, Malchesky PS, Omokawa S y cols. Effects of prostaglandin I₂, superoxide dismutase, and catalase on ischemia-reperfusion injury in liver transplantation. *ASAIO Trans* 1990; 36: M600-M603.
63. Yabe Y, Koyama Y, Nishikawa M, Takakura Y, Hashida M. Hepatocyte-specific distribution of catalase and its inhibitory effect on hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *Free Radic Res* 1999; 30: 265-274.
64. Lehmann TG, Wheeler MD, Schoonhoven R, Bunzendahl H, Samulski RJ, Thurman RG. Delivery of Cu/Zn-superoxide dismutase genes with a viral vector minimizes liver injury and improves survival after liver transplantation in the rat. *Transplantation* 2000; 69: 1051-1057.
65. Lehmann TG, Wheeler MD, Frow M y cols. Effects of three superoxide dismutase genes delivered with an adenovirus on graft function after transplantation of fatty livers in the rat. *Transplantation* 2003; 76: 28-37.
66. Zwacka RM, Zhou W, Zhang Y y cols. Redox gene therapy for ischemia/reperfusion injury of the liver reduces AP1 and NF-kappaB activation. *Nat Med* 1998; 4: 698-704.
67. Pérez de la Cruz AJ, Abilés J, Pérez Abud R. Perspectives in the design and development of new products for enteral nutrition. *Nutr Hosp* 2006; 21 (Supl. 2): 98-108.
68. Grau Carmona T, Bonet Saris A, Fernández Ortega F. Artificial nutrition in intestinal failure: short bowel syndrome. Inflammatory Bowel Disease. *Nutr Hosp* 2005; 20 (Supl. 2): 31-33.
69. Kanth VR, Reddy PU, Raju TN. Behavioral, morphological and physiological shift in the rats administered with tryptophan deficient regimen. *Nutr Hosp* 2006; 21: 596-603.
70. Bulbulla N, Pektaş B, Ozdarendeli A, Dogru O, Aygen E, Akpolat N. The effect of L-tryptophan on hemorrhagic shock induced bacterial translocation. *J Surg Res* 2005; 123: 194-199.
71. Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T. Melatonin in gastroprotection against stress-induced acute gastric lesions and in healing of chronic gastric ulcers. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57 (Supl. 5): 51-66.
72. Dhar A, Kujath S, Van Way CW. Glutamine administration during total parenteral nutrition protects liver adenosine nucleotides during and after subsequent hemorrhagic shock. *J Parenter Enteral Nutr* 2003; 27: 246-251.
73. Van Way CW, Dhar A, Morrison D. Hemorrhagic shock: a new look at an old problem. *Mo Med* 2003; 100: 518-523.
74. Schroder J, Kahlke V, Fandrich F y cols. Glutamine dipeptides-supplemented parenteral nutrition reverses gut mucosal structure and interleukin-6 release of rat intestinal mononuclear cells after hemorrhagic shock. *Shock* 1998; 10: 26-31.
75. Fontana Gallego L, Sáez Lara MJ, Santisteban Bailón R, Gil Hernández A. Nitrogenous compounds of interest in clinical nutrition. *Nutr Hosp* 2006; 21 (Supl. 2): 14-27.
76. Yang R, Tan X, Thomas AM y cols. Alanine-Glutamine Dipeptide (AGD) Inhibits Expression of Inflammation-Related Genes in Hemorrhagic Shock. *J Parenter Enteral Nutr* 2007; 31: 32-36.
77. Matilla B, Mauriz JL, Culebras JM, González-Gallego J, González P. Glycine: a cell-protecting anti-oxidant nutrient. *Nutr Hosp* 2002; 17: 2-9.
78. Wang G, Wang EH. The effect of glycine on survival after hemorrhagic shock in the rats. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2004; 42: 296-301.
79. Wang G, Wang Y, Guan FL, Ren GC, Wang YZ. The effect of combination of glycine and methylprednisolone on Kupffer cells of liver after hemorrhagic shock in rats. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2006; 44: 349-352.
80. Bemelmans MH, Greve JW, Gouma DJ, Buurman WA. Increased concentrations of tumor necrosis factor (TNF) and soluble TNF receptors in biliary obstruction in mice; soluble TNF receptors as prognostic factors for mortality. *Gut* 1996; 38: 447-453.
81. Jiang J, Bahrami S, Leichtfried G y cols. Kinetics of endotoxin and tumor necrosis factor appearance in portal and systemic circulation after hemorrhagic shock in rats. *Ann Surg* 1995; 221: 100-106.
82. Sheen-Chen SM, Chen HS, Ho HT, Chen WJ, Sheen CC, Eng HL. Effect of bile acid replacement on endotoxin-induced tumor necrosis factor-alpha production in obstructive jaundice. *World J Surg* 2002; 26: 448-450.

83. Bertok L. Effect of bile acids on endotoxin *in vitro* and *in vivo* (physico-chemical defense) Bile deficiency and endotoxin translocation. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 851: 408-410.
84. Vreugdenhil AC, Rousseau CH, Hartung T, Greve JW, Van't Veer C, Buurman WA. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein mediates LPS detoxification by chylomicrons. *J Immunol* 2003; 170: 1399-1405.
85. Harris HW, Grunfeld C, Feingold KR y cols. Chylomicrons alter the fate of endotoxin, decreasing tumor necrosis factor release and preventing death. *J Clin Invest* 1993; 91: 1028-1034.
86. Rauchhaus M, Coats AJ, Anker SD. The endotoxin-lipoprotein hypothesis. *Lancet* 2000; 356: 930-933.
87. Vreugdenhil AC, Snoek AM, Van't Veer C y cols. LPS-binding protein circulates in association with apoB-containing lipoproteins and enhances endotoxin-LDL/VLDL interaction. *J Clin Invest* 2001; 107: 225-234.
88. Luyer MD, Buurman WA, Hadfoune M y cols. Pretreatment with high fat enteral nutrition reduces endotoxin and tumor necrosis factor alpha and preserves gut barrier function early after hemorrhagic shock. *Shock* 2004; 21: 65-71.
89. Luyer MD, Buurman WA, Hadfoune M, Jacobs JA, Dejong CH, Greve JW. High-fat enteral nutrition reduces endotoxin, tumor necrosis factor-alpha and gut permeability in bile duct-ligated rats subjected to hemorrhagic shock. *J Hepatol* 2004; 41: 377-383.
90. Luyer MD, Jacobs JA, Vreugdenhil AC y cols. Enteral administration of high-fat nutrition before and directly after hemorrhagic shock reduces endotoxemia and bacterial translocation. *Ann Surg* 2004; 239: 257-264.

Revisión

Modelos animales de fallo hepático fulminante

M. J. Tuñón*, M. Álvarez**, J. M. Culebras*** y J. González-Gallego*

*Ciberehd e Instituto de Biomedicina. Universidad de León. **Departamento de Sanidad Animal. Universidad de León.

***Complejo Asistencial de León. Sacyl. León. España.

Resumen

El fallo hepático fulminante (FHF) es un síndrome clínico muy grave, asociado con alta mortalidad, a pesar de los grandes avances que se han producido en los últimos años en la terapia tanto del manejo de los cuidados intensivos mediante diversos soportes hepáticos bioartificiales como del trasplante hepático. Tanto el conocimiento como el tratamiento del FHF han estado limitados por la falta de modelos animales satisfactorios. Así, han sido muchos los intentos de desarrollar un modelo adecuado, entre los que se incluyen los modelos quirúrgicos, tales como la hepatectomía y desvascularización total y/o parcial, la utilización de sustancias químicas con toxicidad hepática tales como el acetaminofeno, azoximetano, galactosamina, tioacetamida, entre otras. Ahora bien, la mayor parte de estos modelos no reflejan de modo idóneo el patrón de la enfermedad humana de FHF y todos ellos presentan importantes limitaciones. A pesar de que la hepatitis vírica es una de las etiologías más frecuentes de FHF, el uso de agentes víricos para desarrollar modelos animales ha sido escaso y desafortunado. Nuestro grupo ha desarrollado recientemente un modelo animal mediante la inoculación de conejos con el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo que presenta características bioquímicas, histológicas y signos clínicos compatibles con el FHF del hombre. En el trabajo se resumen los modelos animales más utilizados así como las ventajas e inconvenientes más reseñables de cada uno de ellos.

(Nutr Hosp. 2007;22:199-209)

Palabras clave: *Fallo hepático fulminante. Modelos quirúrgicos. Modelos químicos. Modelos víricos.*

Introducción

El fallo hepático fulminante (FHF) es un síndrome clínico muy grave asociado con una alta mortalidad¹ a

Correspondencia: María Jesús Tuñón
Departamento de Ciencias Biomédicas
Universidad de León
24071 León
E-mail: mjtung@unileon.es

Recibido: 10-XI-2006.
Aceptado: 22-XII-2006.

ANIMAL MODELS OF FULMINANT HEPATIC FAILURE

Abstract

Fulminant hepatic failure (FHF) is a very serious clinical syndrome that, in spite of the important therapeutic advances that have taken place in the last years by means of bioartificial hepatic support devices and hepatic transplantation, is still associated to a high mortality. Knowledge and treatment of the FHF have been limited by the lack of satisfactory animal models. Among the attempts to develop a suitable model are surgical models, such as hepatectomy and total and/or partial devascularization, or the use of chemical substances with hepatic toxicity, such as acetaminophen, azoximethane, galactosamine or thioacetamide, among others. However, most of these models do not adequately reflect the pattern of the human disease and all of them present important limitations. Although viral hepatitis is one of the most frequent causes of FHF, the use of viral agents to develop animal models has been little and unfortunate. Our group has recently developed a viral animal model of FHF by means of the inoculation of rabbits with the virus of the rabbit hemorrhagic disease. This model displays biochemical, and histological characteristics, and clinical signs that resemble those in human FHF. In the present article, the most widely used animal models of FHF, together with their main advantages and disadvantages, are presented.

(Nutr Hosp. 2007;22:199-209)

Key words: *Fulminant hepatic failure. Surgical models. Chemical models. Viral models.*

pesar de los grandes avances que se han producido en los campos tanto del manejo de los cuidados intensivos como del trasplante hepático^{2,3}. Desde que en 1970 Trey y Davidson⁴ propusieron una definición del FHF, algunos autores han aportado distintas clasificaciones con el objetivo de establecer un pronóstico y una acción terapéutica en cada caso basándose fundamentalmente en la duración del periodo de tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas clínicos o la aparición de ictericia y el desarrollo de encefalopatía. Así, en el King's College Hospital de Londres,

O'Grady y Williams⁵ propusieron tres categorías: fallo hepático hiperagudo, agudo y subagudo, mientras que, en el Hospital Beaujou de París se clasificó en fallo hepático fulminante, cuando la encefalopatía se desarrolla dentro de las dos semanas de iniciada la ictericia, y en fallo hepático subfulminante cuando se desarrolla entre las dos y doce semanas^{6,7}. Estos criterios siguen utilizándose en la actualidad en clínicas de reconocido prestigio⁸.

El FHF se caracteriza por un rápido deterioro de la función hepática con desarrollo de encefalopatía hepática en pacientes sin historia previa de enfermedad hepática o con alteraciones hepáticas crónicas⁹ que produce un desequilibrio en el que se ven involucradas una gran cantidad de señales de citocinas y de muerte celular en el contexto del daño hepacelular¹⁰. La etiología del FHF es muy diversa e incluye: hepatitis víricas, hepatotoxinas, lesiones vasculares, hepatitis autoinmune, alteraciones metabólicas y deformidades anatómicas hepáticas, si bien, en una gran proporción de pacientes es desconocida. En un estudio sobre su etiología realizado en España durante un período de 6 años (1992-1998), se indicó que los principales agentes etiopatogénicos del síndrome eran: hepatitis víricas (39%), causa desconocida (30%), tóxicos o fármacos (21%) y otros (10%). El estudio puso de relieve que el 15% de los pacientes se recuperó con las medidas convencionales, el 56% precisó trasplante hepático urgente y el 29% murió antes del trasplante¹¹.

La hepatitis vírica aguda constituye una causa frecuente de FHF^{6,12,13}. Los virus causantes de las hepatitis A, B, D y E son capaces de desencadenar FHF. El virus de la hepatitis B es la principal causa a escala mundial, llegando a ser responsable del 70% de los casos de origen vírico¹⁴. El virus de la hepatitis E provoca FHF sobre todo en mujeres en el tercer trimestre de embarazo con gran incidencia en diferentes zonas de África y Asia¹⁵. Otros virus implicados son: herpes simple, varicela-zoster, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, herpes humano tipo 6, adenovirus y paramixovirus, principalmente en estados de inmunosupresión¹⁶.

Los anti-inflamatorios no esteroideos, analgésicos y antibacterianos se encuentran entre los fármacos que con mayor frecuencia pueden desencadenar FHF^{6,17,18}. En la actualidad, se considera que el paracetamol, los antirretrovirales y los fármacos anti-tuberculosos son los principales implicados en ocasionar daño hepático agudo; de hecho, aunque la incidencia de FHF de etiología farmacológica sigue siendo baja, se ha observado en España y en Suecia que la ictericia hepatocelular aguda inducida por fármacos se asocia con la muerte o con la necesidad de un trasplante en al menos un 10% de los casos^{19,20}.

Existen otras causas poco frecuentes de FHF como las asociadas al embarazo (ruptura hepática espontánea), enfermedad veno-oclusiva, síndrome de Budd-Chiari, enfermedad de Wilson, hemocromatosis, metástasis tumorales, sepsis, isquemia y fracaso de trasplante hepático^{21,22}.

El FHF es un síndrome que se produce como consecuencia del fallo funcional de una gran parte del parénquima hepático y cuya gravedad es proporcional al grado de daño hepático. El FHF causa profundas alteraciones fisiológicas caracterizadas por encefalopatía, trastornos hemodinámicos y coagulopatía con desarrollo frecuente de edema cerebral y fallo renal^{16,23,24}. Su diagnóstico se basa en datos bioquímicos y hematológicos que evidencian la hipofunción celular hepática. La investigación sobre los mejores índices predictivos es un campo en continuo desarrollo²⁵. En este sentido, se considera un buen índice predictivo el alargamiento del tiempo de protrombina que no se corrige con vitamina K y la disminución del factor V²⁶. Finalmente, uno de los campos que reciben mayor interés es el estudio de todos los factores que influyen en la apoptosis y la regeneración hepática en este complejo síndrome²⁷.

La fisiopatología de todas estas alteraciones es un área de enorme interés. Parece obvia la existencia de una interrelación entre distintos mecanismos patogénicos que desencadenan los desequilibrios circulatorios. De hecho, la interacción entre el endotelio, el músculo vascular, las toxinas bacterianas, las citocinas, los radicales libres y otros componentes de la cascada de la respuesta inflamatoria provoca la pérdida del control vascular y la lesión local con pérdida de la integridad endotelial y las alteraciones en el flujo sanguíneo de la microcirculación²⁸. El endotelio parece ser el primero en liberar agentes vasoactivos que afectarían al modelo de flujo sanguíneo local y distal en la fase crítica de la enfermedad, siendo componentes esenciales el NO, las prostaciclina y las endotelinas.

Las manifestaciones clínicas y los análisis laboratoriales son comunes en el FHF de diferentes etiologías, salvo peculiaridades específicas. La encefalopatía hepática constituye un criterio diagnóstico y se debe probablemente a la acumulación de amonio y mercaptanos, alteraciones en las vías glutamatonérgicas, serotoninérgicas y noradrenérgicas, producción de neurotransmisores falsos, activación de receptores centrales del ácido gamma-aminobutírico/benzodiazepina y la alteración del metabolismo energético²⁹⁻³¹. La hiperbilirrubinemia es casi siempre de tipo conjugado y la ictericia es un signo precoz y rápidamente progresivo. Se producen graves trastornos de la coagulación por diferentes mecanismos. El consumo del factor V refleja un daño hepático independientemente de los niveles de vitamina K. La insuficiencia renal aparece en el 30-75% de los casos y se asocia a un peor pronóstico. También es frecuente la trombocitopenia³².

El aumento de las concentraciones plasmáticas de aminoácidos aromáticos (AAA) y los valores normales o ligeramente aumentados de los aminoácidos de cadena ramificada (ACR) son hallazgos típicos en los pacientes con FHF³⁰; de hecho un parámetro clínico fundamental en el FHF es el índice de Fischer, es decir, la relación molar entre los ACR/AAA, que disminuye

con el incremento de gravedad de la alteración hepática³³. Así se ha descrito en diversos modelos animales, tanto quirúrgicos³⁴ como utilizando galactosamina³⁵, un aumento significativo de los aminoácidos fenilalanina y tirosina y una disminución del índice de Fischer.

El estudio de la patogénesis del fallo multiorgánico en el FHF y en particular los mecanismos moleculares de regeneración hepática son investigaciones que gozan de un enorme interés³⁶. En animales de experimentación con hepatectomía parcial se han estudiado los mecanismos de regeneración hepática, desde la activación de factores de transcripción hasta la entrada y progresión de los hepatocitos vía el ciclo celular con la eventual síntesis de ADN y división celular³⁷. Aunque se sabe poco acerca del proceso regenerativo hepático en el FHF, es obvio que hay un variable, aunque marcado, grado de pérdida y daño celular en el hígado junto con una ausencia de actividad regeneradora³⁸. Los niveles plasmáticos del factor de crecimiento transformador beta (TGF- β) se elevan. Así, el nivel del HGF es inversamente proporcional a la prognosis³⁹. También es evidente un incremento en la actividad del sistema fibrinolítico que es responsable de la activación tanto del HGF como del TGF- β ⁴⁰. Se ha indicado que el suero de personas afectadas de FHF tiene un efecto negativo sobre el crecimiento de células en cultivo comparado con el suero control debido a la inhibición de la proliferación celular y no a un aumento de la necrosis y/o de la apoptosis celular⁴¹. Recientemente, se ha demostrado, en diversos modelos animales de FHF, que la sobreexpresión de calpastatina, un inhibidor endógeno de la calpaína, evita la progresión del daño hepático cuando la regeneración hepática está comprometida⁴².

En resumen, nuestro conocimiento de las bases patofisiológicas del síndrome neurológico del FHF ha

avanzado considerablemente y se están utilizando nuevas terapias para reducir el amonio y su captación cerebral, alterar el metabolismo del glutamato y posiblemente utilizar una terapia frente a las citocinas proinflamatorias. Sin embargo, nuestro conocimiento sobre las bases patofisiológicas de la alteración hemodinámica, la disfunción inmunológica y el fallo multiorgánico se encuentra en un estado muy rudimentario por lo que es fundamental una profundización de sus bases moleculares⁴³. Por otro lado, aunque en los últimos años se han propuesto y aplicado una gran cantidad de opciones terapéuticas para el FHF, solamente el trasplante hepático ha sido ampliamente aceptado por los especialistas clínicos, pero no siempre resulta posible por la falta de donantes, su elevado coste, la dificultad técnica, viabilidad y la desventaja de requerir tratamiento farmacológico inmunosupresor durante toda la vida, con la dificultad añadida de que los inmunosupresores utilizados actualmente producen efectos secundarios adversos en riñón, hígado y otros órganos³⁸. Los métodos de soporte artificial tales como la destoxificación extracorpórea a través de sistemas de recirculación por absorbentes (MARS)⁴⁴ y las terapias basadas en células reciben cada vez más atención^{25,45,46} pero aún son técnicas que requieren demos-

Tabla I

Principales criterios que debería satisfacer un modelo de FHF (Según Terblanche y Hickman, 1991)

- a) Reversibilidad.
- b) Reproductibilidad.
- c) Muerte por fallo hepático.
- d) Ventana terapéutica adecuada.
- e) Modelo animal de tamaño adecuado.
- f) Mínimo riesgo para las personas.

Tabla II

Principales tipos de modelos animales de FHF en diferentes especies

<i>Modelo animal</i>	<i>Especie</i>
Quirúrgicos:	
Hepatectomía total y/o parcial	Cerdo, perro, conejo, rata, ratón
Desvascularización total y/o parcial	Cerdo, perro, conejo, rata
Químicos:	
Acetaminofeno	Cerdo, perro, conejo, rata, ratón
Galactosamina	Cerdo, perro, conejo, rata, ratón
Tetracloruro de carbono	Cerdo, conejo, rata, ratón
Tioacetamida	Conejo, rata, ratón
Concanavalina A	Rata, ratón
Lipopolisacárido	Rata, ratón
Azoximetano	Ratón
Agentes virales:	
RHDV	Conejo

trar de forma fehaciente su eficacia y viabilidad⁴⁷. En términos de aplicación clínica son absolutamente necesarios estudios funcionales en modelos animales².

Modelos animales de fallo hepático fulminante (FHF)

Existen pocas condiciones en medicina que sean más graves y desalentadoras que el FHF. Tanto el conocimiento como el tratamiento de este síndrome han estado limitados por la falta de modelos animales satisfactorios. Así han sido muchos los intentos de desarrollar un modelo adecuado y reproducible utilizando una gran variedad de especies y de modalidades, desde los modelos inducidos por manipulación quirúrgica, entre los que se incluyen la isquemia hepática la hepatectomía completa y la utilización de sustancias hepatotóxicas tales como acetaminofeno, azoximetano, concanavalina A, sulfoximina butionina, galactosamina y amatoxina-endotoxina, entre otras. Sin embargo, hasta el momento actual no se ha descrito un modelo sencillo que refleje de modo idóneo el patrón de la enfermedad humana de FHF y los que se utilizan presentan importantes limitaciones^{48,49}.

El modelo ideal debería presentar criterios clínicos y bioquímicos bien definidos que, como los criterios pronósticos del *King College* para el FHF¹², sean capaces de lograr una estimación acertada de pronosis. Sin embargo, ninguno de los modelos desarrollados hasta ahora cumple estas premisas. Además, los criterios clínicos y bioquímicos utilizados para indicar la existencia de FHF en modelos animales a menudo tienen poco parecido con los usados en la práctica clínica. Así, por ejemplo, la estimación de la presión intracranial en modelos animales se suele realizar indirectamente mediante la medida del amonio o el electroencefalograma. A pesar de todo ello, y dado el estado de conocimiento del FHF y las dificultades que supone la investigación en pacientes, los modelos animales tienen un papel fundamental en los estudios futuros. Por tanto, aunque se están realizando progresos, la búsqueda debe continuar en este campo con objeto de obtener un modelo animal potente, idóneo, con las mínimas desventajas y que sea capaz de reflejar con precisión el síndrome clínico de humanos^{27,41}.

Un modelo ideal de FHF, según criterios ampliamente reconocidos por la comunidad científica (tabla I)⁵⁰, debería cumplir una serie de requerimientos entre los que se incluyen: que el modelo pueda ser reversible en el sentido de que algunos animales puedan sobrevivir al proceso si se utiliza un tratamiento adecuado; los resultados obtenidos deben ser reproducibles, esto es, conducir a la muerte en un intervalo de tiempo determinado y que la extensión del daño hepático pueda ser medible y estandarizable. Además, la muerte debe producirse por fallo hepático, es decir, los acontecimientos producidos tras el daño tienen que reflejar el patrón clínico típico del hombre y la muerte debe ser el resultado directo del daño producido al hígado;

por consiguiente, los animales no tratados deberían morir con signos de fallo hepático progresivo en un período de tiempo conocido. Además, el animal debe ser de un tamaño suficiente como para permitir una adecuada toma seriada de muestras sanguíneas y de diversos tejidos mientras se llevan a cabo los tratamientos adecuados. Y, finalmente, todos los métodos utilizados deben presentar el menor riesgo para las personas involucradas en los estudios.

Aunque, la mayoría de los casos de FHF son de etiología vírica, la mayor parte de los modelos animales se basan en técnicas quirúrgicas o en daño producido por diversas sustancias químicas (tabla II). Así, se han llevado a cabo numerosos estudios con el fin de lograr modelos aplicables de FHF, unos denominados “modelos quirúrgicos” incluyen la utilización de isquemia hepática y hepatectomía parcial y/o total, y los denominados “modelos químicos” que se basan en la utilización de diversas drogas, toxinas y venenos tales como acetaminofeno, azoximetano, concanavalina A, butionesulfoximina, galactosamina, halotano, tioacetamida, amatoxina-endotoxina, etc. sin que hasta el momento ningún modelo refleje de manera apropiada el patrón humano de FHF y con frecuencia posean limitaciones muy significativas.

Modelos quirúrgicos

Los modelos quirúrgicos de FHF pueden ser catalogados en tres categorías: la hepatectomía (total o parcial), la desvascularización (total o parcial) y aquellos que resultan de la combinación de los dos anteriores.

Hepatectomía total y parcial

Los modelos quirúrgicos de eliminación total y/o parcial del hígado se han desarrollado con éxito en diversas especies animales después del primer intento realizado en perros por Mann en 1921⁵¹. En cerdos se describió un modelo, potencialmente reversible, que combina la hepatectomía parcial (70%) con la derivación portocava y produce la muerte por FHF después de un período de tiempo suficientemente largo como para permitir estudios sobre soportes hepáticos; el animal es de tamaño adecuado y la técnica no presenta peligro⁵².

Se ha podido establecer en ratas que una resección del 95% del hígado es un buen modelo de FHF⁵³, mientras que en ratones una hepatectomía de menos del 90% es el límite de seguridad como modelo de estudio de regeneración hepática ya que por encima de dicho valor se encuentra en un nivel de fallo hepático mortal⁵⁴.

La hepatectomía total del hígado presenta los inconvenientes de la ausencia de productos de la necrosis hepática y transmisores de señales tan fundamentales en el mecanismo patogénico del fallo hepático. Por otro lado sus ventajas se limitan a la reproductibilidad y a su utilidad para el estudio de diversos soportes ar-

tificiales *in vivo* en ausencia de los productos tóxicos eliminados o producidos por el hígado dañado. A pesar de los inconvenientes reseñados la hepatectomía total se ha utilizado en ratas para estudios de regeneración hepática⁵⁵ y en cerdos como modelo reproducible para comprobar la eficacia y función de diversos sistemas temporales de soporte hepático⁵⁶.

Se ha podido demostrar en ratas sometidas a diversos grados de hepatectomía parcial, mediante análisis de ADN, que el FHF inducido es consecuencia tanto del incremento en la apoptosis como de la disminución de la regeneración hepática⁵⁷.

En los últimos años se han realizado diversos avances sobre las técnicas originales, como la utilización de diversas modalidades de prótesis⁵⁸ o el trasplante intraperitoneal de células de la médula ósea bioencapsuladas en ratas con un 90% de hepatectomía⁵⁹.

Desvascularización

La desvascularización completa del hígado se ha utilizado con éxito para inducir un fallo hepático reproducible en cerdos que pueda ser utilizable para el estudio de diversos sistemas de soportes hepáticos artificiales y/o bioartificiales⁶⁰⁻⁶² o para la constatación del efecto de sustancias antioxidantes tales como la N-acetilcisteína⁶³. Así, por ejemplo se desarrolló un modelo reproducible en minicerdos por la desvascularización reversible mediante ligadura de la arteria hepática y anastomosis portocava en el que se monitorizó la presión intracraneal además de otros parámetros clásicos indicativos de FHF. Este modelo presenta una ventana terapéutica de unas 8 horas lo que podría permitir la realización pruebas con diversos soportes de hígado bioartificiales⁶⁴.

Para comprobar la eficacia de diversos sistemas de soporte tanto bioartificiales como artificiales se utilizan con frecuencia modelos animales de mayor tamaño como el cerdo al que se le induce un fallo hepático mediante la isquemia del órgano por derivación portocava y ligadura de la arteria hepática⁶⁵ o mediante desvascularización total⁶⁰.

En un modelo realizado en perros mediante el pinzamiento total de la tríada portal se comprobó que el daño producido por la isquemia-reperfusión ocasionado por el procedimiento quirúrgico era menor tras la administración de un antagonista del receptor B₂ de la bradiquinina⁶⁶. También se ha utilizado un modelo de FHF en perros mediante una derivación portocava combinada con ligadura del conducto biliar para comprobar un nuevo sistema de hígado bioartificial mediante la inoculación de hepatocitos porcinos en biorreactores⁶⁷. Recientemente, se ha desarrollado un modelo porcino en el que se combina una resección del 75-80% del hígado después de un periodo de isquemia⁶⁸.

En estudios realizados sobre el tiempo de supervivencia, la facilidad técnica, seguridad y reproductibilidad de los dos principales tipos de modelos quirúrgi-

cos de FHF, se puso de manifiesto que la desvascularización parece más útil para estudiar el desarrollo y tratamiento del FHF causado por la isquemia y sus efectos secundarios, mientras que la hepatectomía parcial parece superior en la investigación del estatus de la falta del hígado y el tratamiento del FHF mediante sistemas de soportes hepáticos bioartificiales⁶⁹.

Modelos inducidos por sustancias químicas

El uso de agentes químicos tales como el acetaminofeno/sulfoxinina butionina o galactosamina aunque en algunos casos pueden reproducir un número de importantes características clínicas tales como la hipoglucemia, encefalopatía y aumento de enzimas hepáticas, requieren la administración repetida, una monitorización estrecha de sus concentraciones o una terapia de soporte y existen un gran número de factores que pueden causar variabilidad entre distintos experimentos. Además, la constatación de hipertensión intracraneal, una de las características principales del FHF en el hombre, no siempre se produce y, en otros casos, tampoco se ha demostrado el aumento de las toxinas implicadas en la encefalopatía hepática y el edema cerebral del FHF del hombre. A pesar de ello el uso de sustancias químicas hepatotóxicas se ha utilizado y se utiliza con frecuencia como modelo de FHF.

Acetaminofeno

El acetaminofeno (paracetamol) es un fármaco de uso común que puede causar daño hepático; de hecho, es el agente utilizado con mayor frecuencia para el suicidio en el Reino Unido, a pesar de la existencia de un antídoto, la acetilcisteína. La toxicidad del acetaminofeno es dosis-dependiente, pero su efecto puede ser exacerbado por el ayuno, fármacos inductores del sistema citocromo P-450 y de forma especial por el alcohol. Recientemente, se ha indicado, tanto en cultivos de hepatocitos como en ratones, que la vía de las c-jun quinasas terminales (JNK) juegan un papel fundamental en el efecto tóxico del fármaco⁷⁰.

Los resultados de numerosos estudios en modelos animales en los que se utiliza el acetaminofeno para inducir fallo hepático agudo reflejan resultados no muy homogéneos debido a la existencia de importantes variaciones en el metabolismo hepático de detoxificación del fármaco relacionadas con la especie y con la edad^{71,72}. El metabolismo de biotransformación hepática del acetaminofeno se produce en condiciones normales por reacciones de glucuronización y sulfatación para ser después eliminado por la vía renal. Cuando el fármaco se encuentra en exceso, se saturan las vías normales de detoxificación y es metabolizado por el sistema enzimático del citocromo P-450 a N-acetil-p-benzoquinoneimina que, a no ser que se conjuga con el tripéptido glutatión, es capaz de inferir daño hepático mediante la inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial, la depleción de ATP y el estrés

oxidativo y nitrativo que conducen a la apoptosis y necrosis celular⁷³. Por ello, con el fin de potenciar la toxicidad del acetaminofeno se administran diversos inductores del sistema citocromo P-450, se produce la depleción de glutatión⁷⁴ o bien se combinan ambos factores⁷².

Otro aspecto importante que no se ha estandarizado en estos modelos y que conlleva resultados diferentes es la dosis óptima del fármaco, la vía más adecuada de administración y la necesidad o no de la inducción previa del sistema enzimático citocromo P-450^{74,75}. Aspectos que se traducen en alguno de los inconvenientes más importantes de estos modelos como son la falta de reproductibilidad y la variabilidad en el tiempo que transcurre entre el daño infringido y la muerte de los animales^{48,50}. Además, en algunos modelos en roedores se han señalado importantes diferencias en las concentraciones de las principales proteínas de la coagulación respecto a las encontradas en el FHF del hombre⁷⁶.

A pesar de los inconvenientes reseñados, los modelos animales de FHF inducido por acetaminofeno siguen siendo utilizados para estudiar aspectos tales como la implicación de diversos mediadores de la respuesta inflamatoria⁷⁷, la regeneración hepática⁴² y la terapéutica con hepatocitos humanos inmortales⁷⁸.

Galactosamina

La D-galactosamina es una sustancia que metabolizada por la vía de la galactosa en el hígado, mediante la depleción de diversos intermediarios intracelulares de uridina, produce graves alteraciones en el metabolismo del ARN de los hepatocitos y finalmente la necrosis hepática^{48,79} por lo que se ha utilizado para desarrollar modelos de FHF. En uno de los primeros modelos en conejos⁸⁰ se produjo la muerte entre las 21 y las 44 horas precedida por un periodo de coma de 2,6 horas de media y con hallazgos bioquímicos e histológicos compatibles con el FHF; además, se pudo comprobar en esta misma especie que la hepatotoxina no atravesaba la barrera hematoencefálica⁸¹. Más recientemente se ha utilizado la galactosamina en perros anestesiados, modelo en el que también se ponen de manifiesto los efectos característicos del fallo hepático humano como son el aumento en las enzimas marcadoras de daño hepático, bilirrubina, amonio, lactato y la coagulopatía asociada, hipoglicemia, coma y aumento de la presión intracraneal³⁴; sin embargo, en perros sin anestesiar los efectos no fueron semejantes probablemente por el efecto añadido del anestésico en el primer caso. Ahora bien, en otros estudios o bien faltan datos significativos, especialmente los aumentos en la presión intracraneal, o bien los resultados no son muy homogéneos ya que existe una importante diferencia en la sensibilidad a la galactosamina en diferentes especies. Además, el intervalo existente entre el daño infringido a los animales y la muerte presenta muy poca uniformidad, es un agente que resulta caro

para su uso en modelos grandes y finalmente carece de inocuidad⁴⁹.

En cerdos se ha desarrollado un modelo reproducible que puede ser utilizado por su tamaño para la evaluación de diversos sistemas de soporte diseñados para el tratamiento del FHF en humanos⁸². En cualquier caso son numerosos los estudios relacionados con el uso de galactosamina en diversas especies animales con el fin de mejorar el conocimiento del daño renal que acompaña al FHF⁸³ y de las vías metabólicas hepáticas durante el mismo⁸⁴. También ha merecido atención el estudio de los posibles efectos de diversas sustancias como la proteína quimérica hiper-IL-6⁸⁵, la cardiotropina 1⁸⁶ o la fructosa 1,6 difosfato en ratas⁸⁷. Asimismo, estos modelos se han utilizado para comprobar diversos sistemas de asistencia hepática extracorpórea⁸⁸ y sistemas bioartificiales tales como el uso de hepatocitos transfectados con el gen humano del antagonista del receptor de la interleucina 1 en ratas⁸⁹ o el uso de biorreactores con hepatocitos porcinos en cerdos⁴⁶ así como los efectos potenciales del drenaje del líquido cefaloraquídeo y la craneotomía descompresiva en la rata⁹⁰.

Tetracloruro de carbono

El uso de tetracloruro de carbono ha sido ampliamente utilizado como inductor de daño hepático crónico, especialmente como modelo de cirrosis hepática primaria⁹¹. Ahora bien, como agente inductor de FHF su uso ha sido muy restringido por ser muy poco reproducible y muy variable interespecíficamente^{49,92}. Su mecanismo de acción se lleva a cabo en el retículo endoplasmático por la formación de intermediarios reactivos mediante su metabolismo a través de diversas isoenzimas del sistema citocromo P-450⁹³. Este mecanismo también involucra importantes alteraciones en la homeostasis del calcio mitocondrial y es dependiente de la dosis utilizada⁹⁴.

En cerdos se realizó un modelo relativamente uniforme que indujo coma y muerte en un periodo de entre 12 y 52 horas mediante la combinación de pretratamiento con fenobarbital y dos horas de interrupción del flujo sanguíneo arterial seguido de la administración de la toxina por vía intragástrica⁹⁵.

En ratas se ha comprobado que la inyección de tetracloruro de carbono induce de modo concomitante tanto los procesos de daño agudo como los de regeneración hepática⁹⁶. El tetracloruro de carbono se utiliza como una sustancia modelo para dilucidar el mecanismo de acción de efectos hepatotóxicos tales como la degeneración grasa, fibrosis, muerte hepatocelular y carcinogénesis. En relación con la dosis utilizada, el tiempo de exposición, la presencia de agentes potenciadores, o la edad del organismo afectado pueden producirse la regeneración y llevar a la completa recuperación del hígado dañado^{97,98}.

En ratas se ha utilizado para el estudio del trasplante intraesplénico de hepatocitos⁹⁹, para comprobar di-

versos tratamientos farmacológicos¹⁰⁰, así como para el estudio de los mecanismos por los que la regeneración compensatoria del hígado evita la progresión del daño tóxico⁴².

Como críticas cabe destacar que aunque el daño producido por el tetracloruro de carbono se produce principalmente en el hígado, afecta principalmente a la zona central del acino hepático y no se produce una necrosis masiva como en los casos de FHF en el hombre; no se metaboliza completamente en el hígado de forma que parte de la toxina no metabolizada afecta y daña otros órganos, especialmente los pulmones y los riñones⁵⁰ y, por último existe una gran variación en la sensibilidad interespecífica y etaria debida fundamentalmente al diferente grado de desarrollo y eficacia del sistema de destoxicación hepático del citocromo P-450.

Otros modelos químicos

También se ha inducido FHF mediante el uso de venenos tales como el derivado de la *Amanita phalloides*, que aunque sea una intoxicación poco frecuente sus efectos son bien conocidos en humanos. De hecho, el efecto de las amatoxinas se debe a la inducción de la ARN polimerasa provocando toxicidad celular en hepatocitos, células de la mucosa intestinal y células tubulares renales y se ha utilizado para desarrollar un modelo animal de fallo hepático en cerdos en combinación con lipopolisacárido¹⁰¹. También se han desarrollado modelos en los que combinan la amanitina con lipopolisacáridos en cerdos con el fin de estudiar la supervivencia con trasplante ortotópico de hígado y tacrolimus¹⁰².

La tioacetamida causa necrosis hepatocelular después de su biotransformación mediante la vía de las monooxigenasas¹⁰³ y ha sido utilizada para explorar la neurobiología de la encefalopatía hepática en el FHF³⁴, el papel de las especies reactivas del oxígeno¹⁰⁴ así como la acción protectora de sustancias antioxidantes como la curcumina¹⁰⁵, sustancias pro-regenerativas¹⁰⁶, el empeoramiento de la encefalopatía con el tratamiento crónico de sustancias como la indometazina¹⁰⁷ o la contribución relativa de las isoenzimas de la óxido nítrico sintetasa (NOS) en la encefalopatía asociada al FHF en ratas¹⁰⁸.

La administración de azoximetano en ratones induce parámetros similares a los encontrados en el FHF del hombre¹⁰⁹; de hecho, recientemente, se ha demostrado que es un modelo animal sencillo y reproducible muy útil para el estudio de los efectos de la manipulación génica sobre las complicaciones cerebrales que acompañan al FHF¹¹⁰.

Otros modelos emplean la administración parenteral de *Propionibacterium acnes* y lipopolisacárido para estudiar las diferentes expresiones de moléculas estimuladoras¹¹¹; la combinación de D-galactosamina y lipopolisacárido en ratas para comprobar la disminución de la mortalidad de los animales a los que se

administraba el factor de crecimiento endotelial vascular¹¹² y la administración intraportal de alfa-amanitina y lipopolisacárido en cerdos para estudiar soportes de hígado bioartificial¹¹³.

Modelos víricos

A pesar de que la hepatitis vírica es la causa más importante de FHF, el uso de agentes infecciosos para desarrollar modelos animales de FHF ha sido en general muy desafortunado⁴⁷ y solamente ratones transgénicos que sobreexpresan las proteínas del virus de la hepatitis C (HBV) o ratones BALB/cj infectados con el MHV-3^{114,115} han ofrecido alguna luz sobre los mecanismos del FHF inducido por virus. Sin embargo, estos modelos murinos tienen limitaciones significativas en lo que hace referencia a la ausencia de medida de la presión intracraneal, la principal causa de muerte en el FHF humano, o en los datos sobre las toxinas implicadas en la encefalopatía hepática y el edema cerebral además del pequeño tamaño de los modelos que hacen imposible la prueba de nuevos sistemas de soporte hepático^{48,49}.

Más recientemente, nuestro grupo de investigación ha descrito un nuevo modelo animal de FHF producido por la infección experimental de conejos con el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHDV)¹¹⁶. El RHDV es un miembro de la familia de los *Caliciviridae* que causa en los conejos una enfermedad altamente mortal, descrita por vez primera en China en 1984¹¹⁷.

La enfermedad hemorrágica del conejo (RHD, del inglés rabbit haemorrhagic disease) es una hepatitis vírica que presenta con algunas hepatitis víricas humanas de tipo fulminante (B, C, y E) un parentesco sorprendente clínico, anatomopatológico y de su modo de transmisión^{116,118}. El virus no se replica en ningún otro vertebrado¹¹⁹ y no se ha señalado hasta la fecha su transmisión al hombre, aún entre las poblaciones más expuestas al virus.

Se ha demostrado que el antígeno viral puede encontrarse en los hepatocitos ya a las 12 horas posinfección (p.i.) y que a las 36 y 48 p.i. se localiza en el 60-80% de los hepatocitos; así mismo es posible detectarlo en localizaciones extrahepáticas, tales como los linfocitos y los macrófagos del bazo aunque no en el cerebro¹²⁰.

La RDH se caracteriza por su alta morbilidad y una mortalidad cercana al 90%^{116,121}. Los conejos mueren en un rango de tiempo definido, entre las 36 y las 54 horas p.i. con signos clínicos característicos de un FHF progresivo y coma. Además, el intervalo existente desde la infección hasta el momento en que mueren la mayor parte de los animales aporta una amplia ventana terapéutica que hace que nuestro modelo cumpla otro de los requisitos imprescindibles que es la existencia de un período de tiempo suficiente entre agresión y muerte para poder investigar adecuadamente diversas pautas de tratamiento o tecnologías de sopor-

te hepático⁵⁰. Por otra parte, al tratarse de una especie de tamaño medio es posible tomar con facilidad muestras seriadas de sangre, lo que permite una monitorización relativamente sencilla de la presión intracraneal y de las alteraciones bioquímicas producidas en el curso de la infección y hace factible un seguimiento adecuado durante los experimentos¹¹⁶.

En este modelo se reproducen los parámetros bioquímicos e histológicos y los signos clínicos más representativos del FHF del hombre¹¹⁶. Así, detectamos aumentos significativos en las actividades plasmáticas de las transaminasas, lactato deshidrogenasa y la concentración de bilirrubina. Además, se produce un aumento en la concentración plasmática de los aminoácidos aromáticos con una disminución significativa del índice de Fischer e hipoglucemia, al igual que en el FHF humano. Los trastornos de la coagulación observados en este modelo son la disminución de los factores V y VII y la prolongación del tiempo de protrombina. El alargamiento del tiempo de protrombina es un elemento pronóstico en el FHF. Estas alteraciones podrían ser una consecuencia de la síntesis disminuida de los factores de la coagulación por el hígado dañado y el desarrollo de coagulación intravascular diseminada (CID). En las últimas etapas de la enfermedad los animales presentan signos neurológicos de encefalopatía hepática, coma y muerte cerebral. La encefalopatía hepática se encuentra invariablemente asociada con el FHF en el hombre, y se considera un criterio esencial para que un modelo animal de FHF sea relevante desde el punto de vista clínico. Este hecho constituye una limitación muy importante en algunos modelos, tales como los basados en la hepatectomía parcial, en los cuales las complicaciones neurológicas, la encefalopatía o la hipertensión intracraneal están raramente presentes. El aumento de la presión intracraneal en los animales infectados por el RHDV se acompañó de incrementos de las concentraciones plasmáticas de amonio. El examen histológico e inmunohistoquímico reveló por un lado, áreas de necrosis en el hígado asociadas con hemorragias e infiltración de neutrófilos y, por otro, amplias zonas de apoptosis con una elevada expresión de caspasa 3 especialmente en las zonas periportales del acino hepático¹²².

Asimismo, se observaron incrementos significativos en la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y del TNF-alfa, al igual que se ha descrito en pacientes con FHF¹²³. El TNF-alfa es un agente que puede conducir tanto a la proliferación celular como a la apoptosis; su sobreexpresión se correlaciona tanto con el índice de apoptosis en el FHF como con la regeneración hepática¹²⁴.

El equilibrio entre la proliferación y la apoptosis puede dirigirse de acuerdo con la presencia de un exceso de especies reactivas del oxígeno (EROs) que si no son neutralizadas por acción del glutatión o diversas actividades enzimáticas antioxidantes, causan daño mitocondrial y liberación de citocromo c hacia el

citósol disparando la activación de las caspasas y la muerte celular¹²⁵. Esta situación se produce en nuestro modelo animal, pues hemos descrito tanto una reducción del glutatión y las principales actividades enzimáticas antioxidantes, como la presencia de estrés oxidativo¹²⁶ así como una importante implicación de los mecanismos de apoptosis¹²². Por tanto, el conjunto de análisis y observaciones recogidas en los animales infectados por el RHDV refuerza su posible utilización para el estudio de la patogenia y el tratamiento del FHF.

Conclusiones

Existen pocas entidades en medicina que sean más graves y desalentadoras que el FHF. Tanto el conocimiento como el tratamiento de este síndrome han estado limitados por la falta de modelos animales satisfactorios. Las desventajas potenciales de los modelos quirúrgicos son que adolecen de reversibilidad potencial o recuperación, son poco reproducibles, dependen de la pericia quirúrgica, muchos de los parámetros clínicos y bioquímicos típicos del FHF del hombre no se presentan siempre y no reproducen un ambiente complicado por la liberación de mediadores de la respuesta inflamatoria y productos de la necrosis celular hepática. Por ello, su utilidad se limita a la evaluación de diversos sistemas de soporte hepático. Los modelos que utilizan hepatotoxinas no tienen tales restricciones pero también presentan diversos inconvenientes como son la necesidad de ajustar la dosis y las variables susceptibilidades tanto interespecíficas como etarias, sin olvidar el peligro potencial que en la mayoría de los casos presentan tales agentes químicos. En cuanto al único modelo vírico que hasta el momento ha demostrado su viabilidad, inducido en conejos mediante el RHDV, es altamente reproducible, presenta características similares al FHF del hombre y presenta como limitación que la única especie susceptible es el conejo lo que lejos de ser un inconveniente se convierte en ventaja al no ser, por tanto, peligroso para las personas involucradas en los estudios.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado en parte por los proyectos de investigación concedidos por el FIS (Ref. PI021121) y la Junta de Castilla y León (Ref. LE61/03 y LE04/04).

Referencias

1. Lee WR. Acute liver failure. *New Engl J Med* 1993; 324: 273-275.
2. Nussler A, König S, Ott M y cols. Present status and perspectives of cell-based therapies for liver diseases. *J Hepatol* 2006; 45: 144-159.
3. Santana-Cabrera L, O'Shanahan-Navarro G, García-Martul M, Ramírez Rodríguez A, Sánchez-Palacios M, Hernández-Medina E. Quality of artificial nutritional support in an intensive care unit. *Nutr Hosp* 2006; 21: 661-666.

4. Trey C, Davidson LS. The management of fulminant hepatic failure. En: Popper H, Schaffner F, eds. Progress in liver diseases. New York: Grune and Stratton 1970; 282-298.
5. O'Grady JG, Williams R. Classification of acute liver failure. *Lancet* 1993; 342: 743.
6. Bernuau J, Reuff B, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant liver failure: definitions and causes. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 97-106.
7. Bernuau J, Benhamou JP. Classifying acute liver failure. *Lancet* 1993; 342: 252-253.
8. Peláez-Luna M, Martínez-Salgado J, Olivera-Martínez MA. Utility of the MAYO End-Stage Liver Disease score, King's College Criteria, and a new in-hospital mortality score in the prognosis of in-hospital mortality in acute liver failure. *Transplant Proc* 2006; 38: 927-929.
9. Detry O, Arkadopoulos N, Ting P y cols. Intracranial pressure during liver transplantation for fulminant hepatic failure. *Transplantation* 1999; 67: 767-770.
10. Luedde T, Liedtke C, Manns MP, Trautwein C. Losing balance: cytokine signaling and cell death in the context of hepatocyte injury and hepatic failure. *Eur Cytokine Netw* 2002; 13: 377-383.
11. Tost JR. The Spanish Group for the Study of ALF. Characteristics of acute liver failure (ALF) in Spain. *J Hepatol* 2000; 32: 57.
12. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989; 97: 439-445.
13. Fernández JA, Robles R, Marín C y cols. Fulminant hepatic failure and liver transplantation: experience of Virgen de la Arrixaca Hospital. *Transplant Proc* 2003; 35: 1852-1854.
14. Papaevangelou G, Tassopoulos N, Roumeliotou-Karayannis A, Richardson C. Etiology of fulminant viral hepatitis in Greece. *Hepatology* 1984; 4: 369-372.
15. Ramalingaswami V, Purcell RH. Waterborne non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1988; 1: 571-573.
16. O'Grady JG. Acute liver failure. *Postgrad Med J* 2005; 81: 148-154.
17. Ibáñez L, Pérez E, Vidal X, Laporte JR. Grup d'Estudi Multicentric d'Hepatotoxicitat Aguda de Barcelona (GEM-HAB). Prospective surveillance of acute serious liver disease unrelated to infectious, obstructive, or metabolic diseases: epidemiological and clinical features, and exposure to drugs. *J Hepatol* 2002; 37: 592-600.
18. Holubek WJ, Kalman S, Hoffman RS. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology* 2006; 43: 880.
19. Andrade RJ, Lucena MI, Fernandez MC, y cols.; Spanish Group for the Study of Drug-Induced Liver Disease. Drug-induced liver injury: an analysis of 461 incidences submitted to the Spanish registry over a 10-year period. *Gastroenterology* 2005; 129: 512-521.
20. Lewis JH, Ahmed M, Shobassy A, Palese C. Drug-induced liver disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 223-233.
21. Grabhorn E, Richter A, Burdelski M, Rogiers X, Ganschow R. Neonatal hemochromatosis: long-term experience with favorable outcome. *Pediatrics* 2006; 118: 2060-2065.
22. Nakazawa H, Ito T, Makishima H y cols. Adenovirus fulminant hepatic failure: disseminated adenovirus disease after unrelated allogeneic stem cell transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Intern Med* 2006; 45: 975-980.
23. Córdoba J, Crespin J, Gottstein J, Blei AT. Mild hypothermia modifies ammonia-induced brain edema in rats after portacaval anastomosis. *Gastroenterology* 1999; 116: 686-693.
24. Rose C, Michalak A, Rma KV, Quack G, Kircheis G, Butterworth RF. L-ornithine-L-aspartate lowers plasma and cerebrospinal fluid ammonia and prevents brain edema in rats with acute liver failure. *Hepatology* 1999; 30: 636-640.
25. O'Grady J. Personal view: current role of artificial liver support devices. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1549-1557.
26. Izumi S, Langley PG, Wendon J y cols. Coagulation factor V levels as prognostic indicator in fulminant hepatic failure. *Hepatology* 1996; 23: 1507-1511.
27. Palmes D, Skawran S, Spiegel HU. Acute liver failure: from bench to bedside. *Transplant Proc* 2005; 37: 1628-1631.
28. Leifeld L, Dumoulin FL, Purr I y cols. Early up-regulation of chemokine expression in fulminant hepatic failure. *J Pathol* 2003; 199: 335-344.
29. Mullen KD, Szauter KM, Kaminsky-Russ K. "Endogenous" benzodiazepine activity in body fluids of patients with hepatic encephalopathy. *Lancet* 1990; 376: 81-83.
30. Michalak A, Butterworth RF. Selective increases of extracellular brain concentrations of aromatic and branched-chain amino acids in relation to deterioration of neurological status in acute (ischemic) liver failure. *Metab Brain Dis* 1997; 12: 259-265.
31. Zwingmann C, Chatauret N, Leibfritz D, Butterworth RF. Selective increase of brain lactate synthesis in experimental acute liver failure: results of a [H-C] nuclear magnetic resonance study. *Hepatology* 2003; 37: 420-428.
32. Schiodt FV, Balko J, Schilsky M, Harrison ME, Thornton A, Lee WM. Acute Liver Failure Study Group. Thrombopoietin in acute liver failure. *Hepatology* 2003; 37: 558-561.
33. Fischer JE, Funovics JM, Aguirre A, y cols. The role of plasma amino acids in hepatic encephalopathy. *Surgery* 1975; 78: 276-290.
34. Swain M, Butterworth RF, Blei AT. Ammonia and related amino acids in the pathogenesis of brain edema in acute ischemic liver failure in rats. *Hepatology* 1992; 15: 449-453.
35. Sielaff TD, Hu MY, Rollins MD, y cols. An anesthetized model of lethal canine galactosamine fulminant hepatic failure. *Hepatology* 1995; 21: 769-804.
36. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology* 2006; 43: 45-53.
37. Fausto N. Hepatocyte replication and liver regeneration. En: Acute liver failure. Lee WM y Williams R, Ed. Cambridge University Press, pp. 1-9, 1997.
38. Riordan SM, Williams R. Acute liver failure: targeted artificial and hepatocyte-based support of liver regeneration and reversal of multiorgan failure. *J Hepatol* 2000; 32: 63-76.
39. Miwa Y, Harrison PM, Farzaneh F, Langley PG, Williams R, Hughes RD. Plasma levels and hepatic mRNA expression of transforming growth factor- β 1 in patients with fulminant hepatic failure. *J Hepatol* 1997; 27: 780-788.
40. Lyons RM, Keski-Oja J, Moses HL. Proteolytic activation of latent transforming growth factor β from fibroblast-conditioned medium. *J Cell Biol* 1988; 106: 1059-1065.
41. Newsome PN, Nelson LJ, Ansell I, Ross J, Hayes PC, Plevris JN. The inhibition of growth due to fulminant hepatic failure serum is not due to increased apoptosis/necrosis. *J Hepatol* 2000a; 32: 59.
42. Limaye PB, Bhawe VS, Palkar PS y cols. Upregulation of calpastatin in regenerating and developing rat liver: role in resistance against hepatotoxicity. *Hepatology* 2006; 44: 379-388.
43. Jalan R. Acute liver failure: current management and future prospects. *J Hepatol* 2005; 42: 115-123.
44. Chiu A, Fan ST. MARS in the treatment of liver failure: controversies and evidence. *Int J Artif Organs* 2006; 29: 660-667.
45. Allen JW, Hassanein T, Bathia SN. Advances in bioartificial liver devices. *Hepatology* 2001; 34: 447-455.
46. Li LJ, Du WB, Zhang YM y cols. Evaluation of a bioartificial liver based on a nonwoven fabric bioreactor with porcine hepatocytes in pigs. *J Hepatol* 2006; 44: 317-324.
47. Khan SA, Shah N, Williams R, Jalan R. Acute liver failure: a review. *Clin Liver Dis* 2006; 10: 239-258.
48. Newsome PN, Plevris JN, Nelson LJ, Hayes PC. Animal models of fulminant hepatic failure: a critical evaluation. *Liver Transplantation* 2000b; 6: 21-31.
49. Rahman TM, Hodgson HJF. Animal models of acute hepatic failure. *Int J Exp Pathol* 2000; 81: 145-157.
50. Terblanche J, Hickman R. Animal models of fulminant hepatic failure. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 770-774.
51. Mann FC. Studies in the physiology of the liver: I. Technique and general effects of removal. *Am J Med Sci* 1921; 161: 37-42.

52. Filipponi F, Fabbri LP, Marsili M y cols. A new surgical model of acute liver failure in the pig: experimental procedure and analysis of liver injury. *Eur Surg Res* 1991; 23: 58-64.
53. He Y, Zhou J, Dou KF, Chen Y. A rat model for acute hepatic failure. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003; 2: 423-425.
54. Makino H, Togo S, Kubota T, y cols. A good model of hepatic failure after excessive hepatectomy in mice. *J Surg Res* 2005; 127: 171-176.
55. Eguchi S, Lilja H, Hewitt WR, Middleton Y, Demetriou AA, Rozga J. Loss and recovery of liver regeneration in rats with fulminant hepatic failure. *J Surg Res* 1997; 72: 112-122.
56. Filipponi F, Boggi U, Meacci L y cols. A new technique for total hepatectomy in the pig for testing liver support devices. *Surgery* 1999; 125: 448-455.
57. Morita T, Togo S, Kubota T, y cols. Mechanism of postoperative liver failure after excessive hepatectomy investigated using a cDNA microarray. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002; 9: 352-359.
58. Sosef MN, van Gulik TM. Total hepatectomy model in pigs: revised method for vascular reconstruction using a rigid vascular prosthesis. *Eur Surg Res* 2004; 36: 8-12.
59. Liu ZC, Chang TM. Transdifferentiation of bioencapsulated bone marrow cells into hepatocyte-like cells in the 90% hepatectomized rat model. *Liver Transpl* 2006; 12: 566-572.
60. Ytrebo LM, Nedredal GI, Langbakk B, Revhaug A. An experimental large animal model for the assessment of bioartificial liver support systems in fulminant hepatic failure. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 1077-1088.
61. Gao Y, Mu N, Xu XP, Wang Y. Porcine acute liver failure model established by two-phase surgery and treated with hollow fiber bioartificial liver support system. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5468-5474.
62. Sen S, Rose C, Ytrebo LM y cols. Effect of albumin dialysis on intracranial pressure increase in pigs with acute liver failure: a randomized study. *Crit Care Med* 2006; 34: 158-164.
63. Ytrebo LM, Korvald C, Nedredal GI, Elvenes OP, Nielsen Grymyr OJ, Revhaug A. N-acetylcysteine increases cerebral perfusion pressure in pigs with fulminant hepatic failure. *Crit Care Med* 2001; 29: 1989-1995.
64. Ryska M, Kieslichova E, Pantoflicker T y cols. Devascularization surgical model of acute liver failure in minipigs. *Eur Surg Res* 2004; 36: 179-184.
65. Nakazawa K, Ijima H, Fukuda J y cols. Development of a hybrid artificial liver using polyurethane foam/hepatocyte spheroid culture in a preclinical pig experiment. *Int J Artif Organs* 2002; 25: 51-60.
66. Totsuka O, Takeyoshi I, Tsutsumi H y cols. The effects of a bradykinin B₂ receptor antagonist in extended liver resection with ischemia in dogs. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 1771-1775.
67. Chen Z, Ding YT. Functional evaluation of a new bioartificial liver system *in vitro* and *in vivo*. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1312-1316.
68. Ladurner R, Hochleitner B, Schneeberger S y cols. Extended liver resection and hepatic ischemia in pigs: a new, potentially reversible model to induce acute liver failure and study artificial liver support systems. *Eur Surg Res* 2005; 37: 365-369.
69. Fruhauf NR, Oldhafer KJ, Westermann S, Sotiropoulos GC, Kaiser GM. Acute hepatic failure in swine: hepatectomy versus vascular occlusion. *J Invest Surg* 2004; 17: 163-171.
70. Gunawan BK, Liu ZX, Han D, Hanawa N, Gaarde WA, Kaplowitz N. c-Jun N-terminal kinase plays a major role in murine acetaminophen hepatotoxicity. *Gastroenterology* 2006; 131: 165-178.
71. Gregus Z, Madhu C, Klaassen CD. Species variation in toxication and detoxication of acetaminophen *in vivo*: a comparative study of biliary and urinary excretion of acetaminophen metabolites. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 244: 91-99.
72. Rahman TM, Selden AC, Hodgson JF. A novel model of acetaminophen-induced acute hepatic failure in rabbits. *J Surg Res* 2002; 106: 264-272.
73. Sakai H, Park SS, Kikkawa Y. Differential oxidase activity of hepatic and pulmonary microsomal cytochrome P-450 isozymes after treatment with cytochrome P-450 inducers. *Biochem. Biophys Res Commun* 1992; 187: 1262.
74. Miller DJ, Hickman R, Fratter R, Terblanche J, Saunders SJ. An animal model of fulminant hepatic failure: a feasibility study. *Gastroenterology* 1976; 71: 109-113.
75. Francavilla A, Makowka L, Polimeno L y cols. A dog model for acetaminophen-induced fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989; 96: 470-478.
76. Doering CB, Parker ET, Nichols CE, Lollar P. Decreased factor VIII levels during acetaminophen-induced murine fulminant hepatic failure. *Blood* 2003; 102: 1743-1744.
77. James LP, Simpson PM, Farrar HC y cols. Cytokines and toxicity in acetaminophen overdose. *J Clin Pharmacol* 2005; 45: 1165-1171.
78. Nguyen TH, Mai G, Villiger P y cols. Treatment of acetaminophen-induced acute liver failure in the mouse with conditionally immortalized human hepatocytes. *J Hepatol* 2005; 43: 1031-1037.
79. Keppler D, Lesch R, Reutter W, Decker K. Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Exp Mol Pathol* 1968; 9: 279-290.
80. Blitzer BL, Waggoner JG, Jones EA y cols. A model of fulminant hepatic failure in the rabbit. *Gastroenterology* 1978; 74: 664-671.
81. Horowitz ME, Schafer DF, Molnar P y cols. Increased blood-brain transfer in a rabbit model of acute liver failure. *Gastroenterology* 1983; 84: 1003-1011.
82. Kalpana K, Ong HS, Soo KC, Tan SY, Prema Raj J. An improved model of galactosamine-induced fulminant hepatic failure in the pig. *J Surg Res* 1999; 82: 121-130.
83. Anand R, Harry D, Holt S y cols. Endothelin is an important determinant of renal function in a rat model of acute liver and renal failure. *Gut* 2002; 50: 111-117.
84. Arai K, Berthiaume F, Tompkins RG, Yarmush ML. Intrahepatic amino acid and glucose metabolism in a D-galactosamine-induced rat liver failure model. *Hepatology* 2001; 34: 360-371.
85. Galun E, Zeira E, Pappo O, Peters M, Rose-John S. Liver regeneration induced by a designer human IL-6/sIL-6R fusion protein reverses severe hepatocellular injury. *FASEB J* 2000; 14: 1979-1987.
86. Ho DW, Yang ZF, Lau CK y cols. Therapeutic potential of cardiotrophin 1 in fulminant hepatic failure: dual roles in antiapoptosis and cell repair. *Arch Surg* 2006; 141: 1077-1084.
87. Cuesta E, Boada J, Calafell R, Perales JC, Roig T, Bermúdez J. Fructose 1,6-bisphosphate prevented endotoxemia, macrophage activation, and liver injury induced by D-galactosamine in rats. *Crit Care Med* 2006; 34: 807-814.
88. Jáuregui HO, Mullon CJ, Trenkler D y cols. *In vivo* evaluation of a hollow fiber liver assist device. *Hepatology* 1995; 21: 460-469.
89. Shinoda M, Tilles AW, Kobayashi N y cols. A bioartificial liver device secreting interleukin-1 receptor antagonist for the treatment of hepatic failure in rats. *J Surg Res* 2007; 137: 130-140.
90. Yamamoto S, Steers JL, Wharen RE Jr, Eckman CB, Nguyen JH. Cerebrospinal fluid drainage and cranial decompression prolong survival in rats with fulminant hepatic failure. *Transpl Int* 2006; 19: 675-682.
91. Pavanato A, Tuñón MJ, Sánchez-Campos S y cols. Effects of quercetin on liver damage in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 824-829.
92. Shi Z, Wakil AE, Rockey DC. Strain-specific differences in mouse hepatic wound healing are mediated by divergent T helper cytokine responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 10663-10668.
93. Brattin WJ, Glende EA Jr, Recknagel RO. Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity. *J Free Radic Biol Med* 1985; 1: 27-38.
94. Clawson GA. Mechanisms of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pathol Immunopathol Res* 1989; 8: 104-112.

95. Hickman R, Alp MH. A predictable pathophysiological model of porcine hepatic failure. *Eur Surg Res* 1986; 18: 283-292.
96. Taniguchi M, Takeuchi T, Nakatsuka R, Watanabe T, Sato K. Molecular process in acute liver injury and regeneration induced by carbon tetrachloride. *Life Sci* 2004; 75: 1539-1549.
97. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol* 2003; 33: 105-136.
98. López-Díazguerrero NE, Luna-López A, Gutiérrez-Ruiz MC, Zentella A, Konigsberg M. Susceptibility of DNA to oxidative stressors in young and aging mice. *Life Sci* 2005; 77: 2840-2854.
99. Kobayashi N, Ito M, Nakamura J, Cai J, Hammel JM, Fox JJ. Treatment of carbon tetrachloride and phenobarbital-induced chronic liver failure with intrasplenic hepatocyte transplantation. *Cell Transplant* 2000; 9: 671-673.
100. Mikami K, Goto T, Miura K y cols. Gabexate mesilate, a synthetic protease inhibitor, attenuates carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *J Gastroenterol* 2005; 40: 260-265.
101. Takada Y, Ishiguro S, Fukunaga K. Large-animal models of fulminant hepatic failure. *J Artif Organs* 2003; 6: 9-13.
102. Ishiguro S, Takada Y, Gu M y cols. Auxiliary partial orthotopic liver transplantation for fulminant hepatitis: regeneration of the diseased native liver in a pig model. *Transplantation* 2003; 75: 1901-1904.
103. Chieli E, Malvaldi G. Role of the microsomal FAD-containing monooxygenase in the liver toxicity of thioacetamide S-oxide. *Toxicology* 1984; 31: 41-52.
104. Pallottini V, Martini C, Bassi AM, Romano P, Nanni G, Trentalancia A. Rat HMGCoA reductase activation in thioacetamide-induced liver injury is related to an increased reactive oxygen species content. *J Hepatol* 2006; 44: 368-374.
105. Shapiro H, Ashkenazi M, Weizman N, Shahmurov M, Aeed H, Bruck R. Curcumin ameliorates acute thioacetamide-induced hepatotoxicity. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 358-366.
106. Margeli AP, Papadimitriou L, Ninos S, Manolis E, Mykoniatis MG, Theocharis SE. Hepatic stimulator substance administration ameliorates liver regeneration in an animal model of fulminant hepatic failure and encephalopathy. *Liver Int* 2003; 23: 171-178.
107. Chu CJ, Hsiao CC, Wang TF y cols. Prostacyclin inhibition by indomethacin aggravates hepatic damage and encephalopathy in rats with thioacetamide-induced fulminant hepatic failure. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 232-236.
108. Chu CJ, Chang CC, Wang TF y cols. Detrimental effects of nitric oxide inhibition on hepatic encephalopathy in rats with thioacetamide-induced fulminant hepatic failure: role of nitric oxide synthase isoforms. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1194-1199.
109. Matkowskyj K.A, Marrero JA, Carroll RE, Danilovich AV, Green RM, Benya RV. Azoxymethane-induced fulminant hepatic failure in C57BL/6J mice: characterization of a new animal model. *Am J Physiol* 1999; 277: 455-462.
110. Belanger M, Cote J, Butterworth RF. Neurobiological characterization of an azoxymethane mouse model of acute liver failure. *Neurochem Int* 2006; 48: 434-440.
111. Nakayama Y, Shimizu Y, Hirano K y cols. CTLA-4Ig suppresses liver injury by inhibiting acquired immune responses in a mouse model of fulminant hepatitis. *Hepatology* 2005; 42: 915-924.
112. Namisaki T, Yoshiji H, Kojima H y cols. Salvage effect of the vascular endothelial growth factor on chemically induced acute severe liver injury in rats. *J Hepatol* 2006; 44: 568-575.
113. Ishizawa Y, Totsuka E, Umehara M, Nishimura A, Ono H, Sasaki M. Efficacy of double-filtration plasmapheresis cross-circulation with a high-permeability membrane using canine harvested liver in porcine fulminant hepatic failure model. *Transplant Proc* 2004; 36: 2344-2348.
114. Ando K, Moriyama T, Guidotti LG y cols. Mechanisms of class I restricted immunopathology. A transgenic mouse model of fulminant hepatitis. *J Exp Med* 1993; 178: 1541-1554.
115. Ding JW, Ning Q, Liu MF y cols. Fulminant hepatic failure in murine hepatitis virus strain 3 infection: tissue specific expression of a novel fgl2 prothrombinase. *J Virol* 1997; 71: 9923-9930.
116. Tuñón MJ, Sánchez-Campos S, García-Ferreras J, Álvarez M, Jorquera F, González-Gallego J. Rabbit hemorrhagic viral disease: characterization of a new animal model of fulminant liver failure. *J Lab Clin Med* 2003; 141: 272-278.
117. Liu SJ, Xue HP, Pu BQ, Quian NH. A new viral disease in rabbits. *Anim Hus Vet Med* 1984; 16: 253-255.
118. Mikami O. Hepatic lesions in young rabbits experimentally infected with rabbit haemorrhagic disease virus. *Res Vet Sci* 1999; 66: 237-242.
119. Gould AR, Kattenbelt JA, Lenghaus C y cols. The complete nucleotide sequence of rabbit haemorrhagic disease virus (Czech strain V351): use of the polymerase chain reaction to detect replication in Australian vertebrates and analysis of viral population sequence variation. *Virus Res* 1997; 47: 7-17.
120. Prieto JM, Fernández F, Álvarez V y cols. Immunohistochemical localisation of rabbit haemorrhagic disease virus VP-60 antigen in early infection of young and adult rabbits. *Res Vet Sci* 2000; 68: 181-187.
121. Alonso C, Oviedo JM, Martín-Alonso JM, Díaz E, Boga JA, Parra F. Programmed cell death in the pathogenesis of rabbit hemorrhagic disease. *Arch Virol* 1998; 143: 321-332.
122. San-Miguel B, Álvarez M, Culebras JM, González-Gallego J, Tuñón MJ. N-acetyl-cysteine protects liver from apoptotic death in an animal model of fulminant hepatic failure. *Apoptosis* 2006; 11: 1945-1957.
123. Muto Y, Nouri-Aria KT, Meager A, Alexander GJ, Eddleston AL, Williams R. Enhanced tumour necrosis factor and interleukin-1 in fulminant hepatic failure. *Lancet* 1988; 2: 72-74.
124. Webber EM, Bruix J, Pierce Rh, Fausto N. Tumor necrosis factor primes hepatocytes for DNA replication in the rat. *Hepatology* 1998; 28: 1126-234.
125. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol* 2000; 32: 19-31.
126. Sánchez-Campos S, Álvarez M, Culebras JM, González-Gallego J, Tuñón MJ. Pathogenic molecular mechanisms in an animal model of fulminant hepatic failure: rabbit hemorrhagic viral disease. *J Lab Clin Med* 2004; 144: 215-222.

Original

IV Foro de Debate SENPE: Problemática de la investigación en nutrición

A. García de Lorenzo, J. Álvarez, C. Casimiro, P. P. García Luna, P. García Peris, A. Gil, C. Mellado, A. Miján, C. Ortiz Leyba, M. Planas, A. Pibernat, G. Piñeiro y J. Veiga

Resumen

El IV Foro de Debate SENPE valora desde un punto de vista multidisciplinar y multiprofesional la problemática de la investigación clínica en nutrición en España centrándose, debido a la falta de legislación, en la nutrición enteral. Se concluye en el compromiso de la SENPE en la potenciación de la calidad, en la formación y facilitación de la investigación, en una mayor ayuda a los grupos investigadores emergentes, en la búsqueda de financiación y en una puntual información sobre las diferentes convocatorias de los sistemas públicos y sobre los centros de referencia.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:210-2)

Palabras clave: *Investigación. Nutrición. Enteral. Parenteral. Legislación. Financiación.*

Definición

La Investigación se define como un proceso sistemático, organizado y objetivo destinado a responder una pregunta científica.

El método científico constituye el elemento esencial de toda ciencia. El método, es la forma de llevar a cabo una acción de manera estructurada. Cuando hablamos de métodos de investigación podemos hacer una división de la investigación según sus objetivos en básica o aplicada, y si lo hacemos desde una perspectiva del tipo de variables o parámetros a estudio, análisis e interpretación, en cualitativa y cuantitativa. La diferencia fundamental entre ambas perspectivas metodológicas es que mientras la cuantitativa se centra en el estudio de las relaciones entre variables cuantificadas, la cualitativa lo hace respecto a variables no numéricas del tipo de las nominales u ordinales.

Correspondencia: Prof. Dr. A. García de Lorenzo
E-mail: agdl@telefonica.net

Recibido: 09-I-2007.

Aceptado: 16-I-2007.

IV DEBATE FORUM OF THE SENPE: QUESTIONS ON NUTRITION RESEARCH

Abstract

The IV Debate Forum of the SENPE values from a multidisciplinary and multi-professional perspective the questions on clinical research in nutrition in Spain, focusing on enteral nutrition due to the lack of legislation on this issue. The concluding remarks point out the SENPE commitment with promoting quality, education and facilitation of research, greater help to emergent groups, looking for financial support, and timely information on the several summons from public systems and reference centers

(*Nutr Hosp.* 2007;22:210-2)

Key words: *Investigation. Nutrition. Enteral. Parenteral. Law. Finance.*

Objetivos

En la investigación, tanto básica como clínica, se deben definir objetivos de alto impacto y excelencia. Se recomienda que sean de interés supranacional, y ello se puede conseguir a través de equipos interdisciplinares.

Por otra consideramos que:

- Se debe potenciar la investigación traslacional llevando tanto los problemas que surgen en la clínica diaria a la investigación básica como los avances del laboratorio a la práctica clínica.
- Se debe potenciar el desarrollo de líneas convergentes de investigación en las que se imbriquen todos los profesionales sanitarios interesados.
- La farmacia hospitalaria (FH) participa, desde diversos aspectos, en las nuevas líneas de investigación biomédica en nutrición artificial. Por ello debe de ser incluida en los proyectos de investigación. Se recuerda la importancia de la FH en los proyectos de estudios farmacoeconómicos y en el desarrollo de los ensayos clínicos (ECs).

Hay que destacar que es imposible realizar investigación sin unas infraestructuras y sistemas de financiación adecuados.

Calidad

El desarrollo de estudios de investigación en nutrición enteral (NE) debería cumplir los mismos criterios de calidad que se exigen habitualmente por los Comités de Ética de la Investigación Clínica (CEICs) al analizar los ensayos clínicos con fármacos. El disponer de un seguro que cubra las posibles incidencias que ocurran a los pacientes incluidos en un estudio sería deseable, aunque muchas veces va a ser imposible de realizar por lo elevado de su coste.

El IV FORO SENPE recomienda que para mejorar la calidad asistencial en el cuidado del paciente (Gestión y Prevención de Riesgos) se deberían diseñar líneas de investigación que permitan evaluar la seguridad de las intervenciones terapéuticas. En estas líneas deberían estar implicados todos los miembros del equipo de soporte nutricional.

Formación

La formación en investigación biomédica (nutrición clínica —NC—) se puede conseguir tanto de forma autodidacta como académica, siempre bajo la premisa de la observancia del método científico. La formación en investigación biomédica debería iniciarse en el periodo de pre-grado independientemente de la titulación universitaria en ciencias de la salud que se esté cursando.

Durante la formación (MIR-FIR) se debería completar la formación en investigación biomédica.

Desde este FORO SENPE se propone que:

- El epígrafe de la formación MIR-FIR... en metodología de la investigación aplicada sea incluido en el nuevo plan de Formación Complementaria.
- Para otras titulaciones (licenciaturas, diplomaturas) consideramos que la formación en investigación en NC debe de ser incluida en los planes de Formación Continuada.

Valoración de los proyectos de investigación

El IV FORO SENPE propone que en la valoración de los Proyectos de Investigación se incluya no solo el factor de impacto de los investigadores sino otros modelos de valoración como n.º de citas, calidad de revistas citantes...

También deben de ser contempladas las publicaciones en revistas MedLine sin factor de impacto y otros tipos de literatura científica, literatura gris...

Los ECs con resultados negativos muchas veces no se publican lo que conduce al sesgo de publicación. Esto en general se cree que es por desinterés de los promotores o de los investigadores pero hay que tener en cuenta que muchas veces las revistas científicas rehúsan publicar este material al considerarlo poco llamativo. En general los estudios con resultados negativos o neutros deben de ser publicados y si no es

posible encontrar una revista que lo acepte debería colocarse al menos un resumen en una base de datos de acceso público.

Información

La investigación y la información forman parte del mismo proceso. Conocer, y manejar adecuadamente, las fuentes de información (Medline, Scielo, UMLS, LILAS, Bireme, IBECs...) es esencial en el proceso investigador, tanto para plantear las áreas de interés en la investigación como para comunicar los resultados a la comunidad científica.

Financiación

Existen sistemas de financiación públicos estructurados en forma de Programas Nacionales, Autonómicos, Europeos e Iberoamericanos entre los que se incluyen:

- Plan Nacional de Investigación (FIS).
- Redes Temáticas de Investigación Cooperativa (RETIC).
- Proyectos CIBER: Estructuras de investigación susceptibles de desarrollar un amplio proyecto científico con una temática concreta.
- Ciencia y tecnología para el desarrollo (CYTED).
- Programa Marco de la Unión Europea.
- Otros.

Podría considerarse una buena estrategia para el investigador novel acudir a otras fuentes de financiación que son observadas por las Sociedades Científicas, Fundaciones privadas, Unidades de Gestión Clínica y la Industria farmacéutica

Se recomienda que las Fundaciones y otras entidades colaboren en la financiación de los seguros en los casos de ECs que no dispongan de ellos.

Legislación

Mientras que en el caso de los estudios con fármacos (y con nutrición parenteral) la legislación aplicable es el Real Decreto 223/2004 en el caso de ECs y el Anexo VI de la Circular 15/2002 y la legislación propia de cada comunidad autónoma (CCAA) en el caso de los estudios postautorización (EPA) observacionales, en el caso de los estudios de cualquier tipo que se realizan con nutrición enteral no existe legislación. Esto supone que no es necesario obtener la autorización de la Agencia Española del Medicamento (AEMPS) en el caso de un EC, ni de las CCAA en el caso de los EPA, ni es necesario obtener la aprobación de los comités éticos en ningún caso, ni es necesario presentar a ningún organismo el informe final de los estudios.

Desde este IV FORO se propone el desarrollo de una normativa reguladora —de la *investigación clínica*—

ca en nutrición enteral/oral que tenga características similares a la ya existente para la NP y para otros fármacos.

Confidencialidad e información sanitaria protegida

Consideramos que hay que definir correctamente que se entiende por Información Sanitaria Protegida al inicio del EC aleatorizado. De otra forma se puede afectar adversamente a la calidad y a los estándares de la investigación clínica.

Facilitación de la investigación

Los sistemas de acreditación de la carrera profesional deben incluir baremos que evalúen suficientemente la investigación biomédica realizada y que se sean aplicables a la carrera y promoción profesional.

Independientemente de la investigación realizada por todos los profesionales, deben existir núcleos de investigadores con liberación parcial de trabajo asistencial.

Papel de la SENPE como Sociedad Científica

- SENPE debe potenciar a los Grupos Emergentes en investigación, para ello su Comité Científico Educativo (CCE) tomará las oportunas resoluciones a este respecto.

- El CCE de la SENPE debe valorar:

- la conveniencia de incluir en sus actividades formativas cursos de metodología de la investigación
- la realización en los congresos de mesas redondas interdisciplinares básicas-clínicas (traslacionales)
- la generación de un listado de centros de referencia de técnicas de investigación biomédica
- la página web de la SENPE (www.senpe.com) creará un epígrafe con información actualizada sobre convocatorias de sistemas de financiación públicos.

Agradecimientos

SENPE agradece a Abbott Nutrition International su colaboración y firme apoyo en la realización de los FOROS de DEBATE.

Colaboradores

Aomar	Abdel-Lanh
Isabel	Amor Ruiz
Mercedes	Antona Díaz
Antxón	Apezetxea Celaya
Rosa	Burgos Peláez
Mateu	Cabré Roure
M. ^a Victoria	Calvo
Asunción	Castaña
Carlos	Castell Aznar

Mercedes	Cervera Peris
José	Chamorro Quirós
Héctor	Escobar
Elena	Escudero
M. ^a Ángeles	Fernández
Marta	Fernández Fernández
Fernando	Ferrón Vidán
Francisco	García Padial
Mercedes	Gómez
Gema	Guerrero Martínez
Ricardo	Guijarro
José A.	Irles Rocamora
Magdalena	Jiménez Sanz
Clara	Juanquín Ortiz
Pilar	Lalueza
Miguel	León Sanz
Esther	Llorente
Pedro	Marse Milla
Tomás	Martín Folgueras
Elvira	Martín de la Torre
Cecilia	Martínez Acosta
Miguel	Martínez Olmos
Javier	Martínez Trufero
Gabriel	Mercadal Orfila
Alfonso	Mesejo
Juan B.	Molina Soria
Ana	Moráis López
José	Moreiro Socias
Francisco	Moreno Baró
Rosario	Moreno-Torres Herrera
Ana	Morillo Mora
Antonio	Muñoz Aguilar
Teodosia	Muñoz de Escalona Martínez
M. ^a José	Muñoz García
Carmen	Muñoz Muniz
Ana	Murcia López
Josefina	Olivares Alcolea
Rosa María	Orduña
Pere	Ortiz Sagrista
Juan	Parra Barona
M. ^a Ángeles	Penacho Lázaro
Antonio	Pérez de la Cruz
Juan Carlos	Pérez Pons
Cleofé	Pérez Portadella
Jaime	Poquet
Isabel	Rodríguez Higuera
María	Sagales Torra
Jesús	Sánchez Nebra
Olga	Sánchez-Vilar
Iñaki	Santos Artetxe
Alejandro	Sanz París
Pilar	Savín
Lucrecia	Suárez
Vicente	Varea Calderón
Pablo	Vázquez Barros
Fernando	Vences Benito
Alfonso	Vidal Casariego
Ignacio	Ulibarri
Luis	Usán

Original

II Mesa de Trabajo Baxter-SENPE: Nutrición Parenteral Periférica

A. García de Lorenzo, A. Ayúcar, M. Sagalés y A. Zarazaga

Resumen

En la IIa Mesa de Trabajo BAXTER-SENPE un grupo multidisciplinario de expertos en nutrición debate sobre las indicaciones, ventajas e inconvenientes de la Nutrición Parenteral Periférica (NPP), definiéndose ésta como una NP compuesta por los tres principios inmediatos, vitaminas y minerales. Su composición implica una razón H d C: Lípidos de 60:40, un límite en el aporte diario lipídico (1,3 g/kg de peso/día y no más del 30 % de las calorías totales) y una carga nitrogenada que no supere los 10 gramos de nitrógeno en un volumen máximo de 2500 ml. La NPP permite su administración por vía periférica debido a presentar una osmolaridad menor de 800 mOsm/l y un pH entre 6,0 y 7,4; de esta forma evita los posibles efectos deletéreos del acceso venoso central. A día de hoy la NPP puede llegar a suponer el 50 % de las NPs prescritas en un centro hospitalario. Los estudios de eficacia, seguridad y farmacoeconomía demuestran que la NPP es un recurso terapéutico muy útil en determinadas situaciones clínicas tanto médicas como quirúrgicas para evitar el deterioro metabólico-nutricional del paciente lo que repercute en una reducción significativa de las complicaciones, disminuye significativamente el número de exploraciones y acorta la estancia hospitalaria.

(Nutr Hosp. 2007;22:213-6)

Palabras clave: Nutrición parenteral periférica. NPP. Eficacia. Indicaciones. Farmacoeconomía.

Definición y Premisas

– Definimos como Nutrición Parenteral Periférica (NPP) a una nutrición parenteral que, tras calcular los requerimientos del paciente, consigue una osmolaridad menor de 800 mOsm/l y un pH entre 6,0 y 7,4 lo que permite su administración por vía periférica y evita los posibles efectos deletéreos del acceso venoso central.

– La NPP debe contener los tres macronutrientes y los minerales a dosis limitadas.

II BAXTER-SENPE WORKSHOP: PERIPHERAL PARENTERAL NUTRITION

Abstract

During the II BAXTER-SENPE workshop, a multidisciplinary nutrition expert committee discusses on indications, advantages and drawbacks of Peripheral Parenteral Nutrition (PPN), being defined as PN compounded by the three essential elements, vitamins, and minerals. Its composition implies a CH: lipids ratio of 60:40, a limited lipid daily intake (1.3 g/kg of body weight/day) and no more than 30% of total calories), and a nitrogen load not higher than 10 g of nitrogen in a maximum volume of 2500 mL. PPN can be administered by the peripheral route since its osmolarity is lower than 800 mOsm/L and pH is 6.0-7.4; in this way, possible adverse affects of central venous accesses are prevented. Currently, PPN by represent up to 50% of all PNs prescribed at a hospital. Studies on efficacy, safety and pharmacoeconomic show that PPN is very useful therapeutic resource in certain clinical situations, both medical and surgical, to prevent metabolic-nutritional worsening of the patient, thus having an impact on significant reduction of complications, the number of interventions, and hospital stay.

(Nutr Hosp. 2007;22:213-6)

Key words: Peripheral parenteral nutrition. PPN. Efficacy. Indications. Pharmacoeconomics.

– Se recomienda la aplicación de determinadas reglas, tales como una razón H d C: Lípidos alrededor de 60:40 y un límite en el aporte diario lipídico (1,3 g/kg de peso/día y no más del 30 % de las calorías totales)

– La osmolaridad del producto viene dada fundamentalmente por los macronutrientes incorporados a la mezcla (hidratos de carbono, lípidos y aminoácidos), y no debemos olvidar que cada gramo de estos últimos por litro supone 7 mOsm (43,75 mOsm/l por g de N₂), por lo tanto, pacientes que requieran un balance nitrogenado positivo elevado y durante mucho tiempo (en función de su malnutrición previa, y /o la grave agresión quirúrgica), quedarían excluidos de este tipo de soporte. Por el contrario, el aporte de lípidos (3 mOsm/l/gramo) en la mezcla permite bajar la osmolaridad (fig. 1).

Correspondencia: Prof. Dr. A. García de Lorenzo
E-mail: agdl@telefonica.net

Recibido: 07-I-2007.

Aceptado: 15-I-2007.

**Para calcular la Osmolaridad aproximada
tendremos en cuenta los macronutrientes
(Hidratos de Cargono, Lípidos, Proteínas)**

• 1 g de Glucosa	= 6mOsm
• 1 g de Lípidos	= 3mOsm
• 1 g de AA	= 7mOsm
• 1 g N = (6,25 g de AA)	= 43,75mOsm

Fig. 1.—Carga osmolar de los principios inmediatos.

– Se recomienda que su duración no sea superior a los 7-10 días, aunque estará marcada tanto por la calidad y localización de los accesos venosos como por su composición en macro y micronutrientes y por la cobertura de las necesidades calóricoproteicas.

– En algunas indicaciones se podría valorar su empleo en periodos de tiempos cortos (3-4 días), salvo que sea complementaria a una nutrición oral/enteral en cuyo caso no existe límite de tiempo.

– No consideramos, actualmente, su indicación dentro de los cuidados paliativos como sistema de hidratación.

Composición

Una NPP tipo debe aportar de 6 a 10 gramos de nitrógeno y de 900 a 1500 kcal, presentar una razón kcalnp:g de N entre 130-150:1, una relación entre calorías hidrocarbonadas y lipídicas de 60 a 40 y tener un volumen total aproximado entre 1500 y 2500 ml. Se recomienda el aporte diario de la RDA en vitaminas y minerales

Indicaciones

• No son las complicaciones ligadas al catéter venoso central la principal indicación de uso de la NPP; es la evidencia de que un alto porcentaje de pacientes precisan de aportes calóricos más bajos de lo que se creía y se calculaba por las fórmulas de HarrisBenedict o de Long etc. Esto ha sido confirmado por calorimetría indirecta en muchos cuadros clínicos hallando que oscilan alrededor de 1500 ± 251 kcal/d y que las necesidades proteicas se establecen en $67 \pm 15,6$ gr. También se sabe que los requerimientos calóricos totales en los pacientes críticos no son demasiado elevados, y se recomiendan no superen las 20-25 kcal/ kg/d.

– Aunque en más del 80 % de los pacientes con NPP, ésta supone el único soporte nutricional, se debe subrayar que una indicación clave de la NPP es como nutrición complementaria a una nutrición enteral/oral insuficiente.

– La NPP puede suponer más del 50 % de las indicaciones de NP en un hospital tipo, siendo prácticamente equilibradas las indicaciones quirúrgicas y las no quirúrgicas:

• En los pacientes no quirúrgicos se seguirán las mismas indicaciones que para la NPT (fig 2)

• En los pacientes quirúrgicos se indicará en el periodo preoperatorio de cirugía mayor ante la presencia de malnutrición y neoplasia (tumores gástricos o de colon) y en el periodo postoperatorio en función de la previsión de ayuno y grado de estrés (fig 3). Por otra parte, y en contraposición a la NE en el periodo post-operatorio inmediato, con la NPP se alcanza un aporte calórico mínimo de 1300 kcal/d desde el primer día evitando las pérdidas vinculadas a intolerancia gastrointestinal que habitualmente se asocian a una nutrición enteral precoz.

Ventajas y Recomendaciones para el abordaje periférico

Ventajas:

– En los pacientes hospitalizados es habitual la canalización de una vía venosa periférica.

– Una vía venosa periférica permite un abordaje sencillo para el aporte de nutrientes, si no es posible utilizar la vía digestiva.

– Por una vía periférica es posible aportar los principales nutrientes: aminoácidos, carbohidratos, lípidos, electrolitos y vitaminas.

– Se evitan las complicaciones relacionadas con una vía central

INDICACIONES NPP

- Ayuno >7 d. y de duración incierta
- Relacionadas con CVC:
- Retirada de CVC por Infección, Sepsis o Trombosis
 - a. Dificultades técnicas para acceder a una vía central
 - b. Trastorno de la coagulación
Riesgo/Beneficio en contra de la colocación de CVC
 - c. Nutrición “puente” hasta colocar CVC
- Íleo no Quirúrgico
- Pancreatitis
- Otras indicaciones
 - a. Soporte Nutricional Complementario en NE u oral insuficiente
 - b. Imposibilidad de colocar SNG
 - c. Imposibilidad de colocación por Mucositis u Obstrucción Tracto Digestivo Alto
 - d. Intolerancia a la NE total o Parcial.

Fig. 2.—Posibles indicaciones de una NPP en el paciente no-quirúrgico.

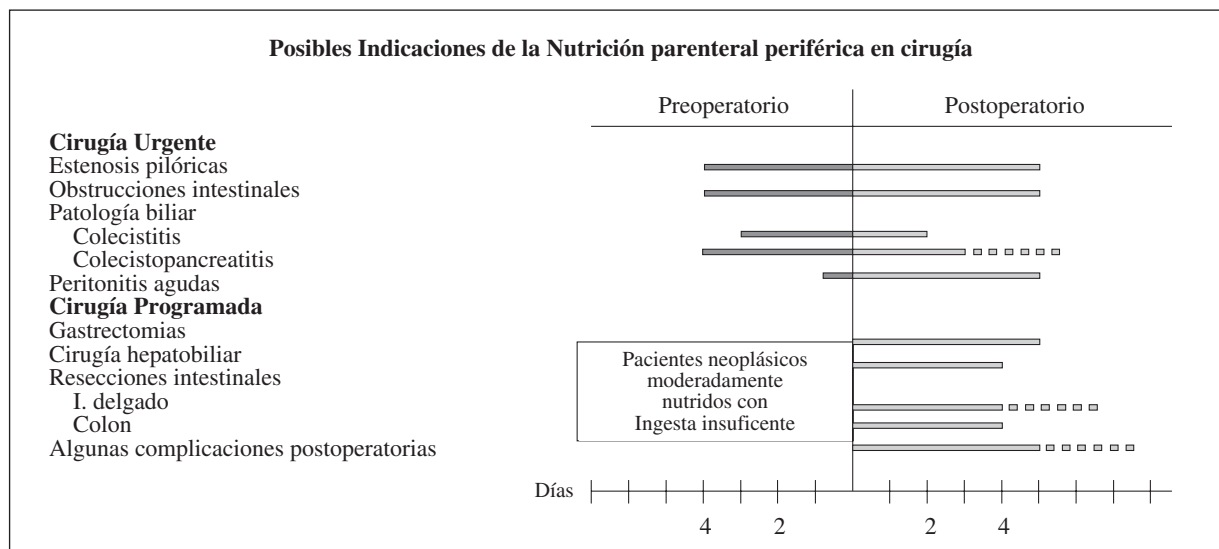


Fig. 3.—Posibles indicaciones de una NPP en el paciente quirúrgico.

Recomendaciones:

– Se elegirá una vena con un calibre adecuado y se considerará el tamaño (18 a 22 gauges) y el material de catéter (se recomienda el empleo de poliuretano evitando el uso de polivinilo y de polietileno) así como seleccionar cuidadosamente el punto de punción, evitando las zonas de flexión.

– Se recomienda tener la precaución de no mezclar fármacos con la NPP.

– La perfusión continua de la NPP presenta mejor tolerancia

– Las precauciones en el mantenimiento de la vía venosa permiten minimizar el riesgo de aparición de tromboflebitis, siendo recomendable cambiar sistemáticamente cada 48-72 horas el punto de inserción del catéter.

Controles

Serán los mismos que los aplicables, según protocolo, para la NP por vía central siendo recomendable el empleo de un protocolo específico de prevención y diagnóstico precoz de tromboflebitis por catéter.

Manipulación

La NPP es un medicamento y como tal debe de ser manejada, siendo recomendable que cualquier manipulación de la bolsa (adiciones) sea realizada en la farmacia del hospital y/o con las condiciones apropiadas requeridas para una mezcla intravenosa.

Problemas detectados para la indicación de RTU¹-periféricas (NPPRTU)

En el caso de las RTU-NPP el fabricante deberá facilitar la composición de macronutrientes y electrolitos contenidos así como las cantidades máximas de micronutrientes, electrolitos, minerales y oligoelementos que se pueden añadir en cada formato en caso necesario.

Al analizar la composición de una NP-RTU tipo, el déficit para unas necesidades estándar no es relevante (tabla I).

Y conocemos que es posible añadir a la mezcla cantidades suplementarias de electrolitos así como oligoelementos siguiendo unas reglas definidas como las expuestas en la figura 4, si bien lo recomendable es que cualquier manipulación de la bolsa, debería ser realizada con las condiciones apropiadas, en la farmacia del hospital.

Tabla I
Composición electrolítica de una NP-RTU, necesidades estándar y posibles déficits

	Aporte	Necesidades	Déficit
Cloro	78-83	100	10-20
Na	53	120	70
K	40	70	30
Ca	6,6-10	10	–
Mg	11-13	10	–
Acetato	65-76	76	–
PO ₄ H	18-21	18	–

¹ RTU: ready-to-use (lista para su uso o listas para usar)

Si se añaden electrolitos adicionales además de los que contiene la dieta, no deberán superarse las concentraciones siguientes de electrolitos por litro de mezcla:

sodio: 150 mmol/l
potasio: 150 mmol/l
magnesio: 5.6 mmol/l
calcio: 5 mmol/l

Fig. 4.—Cantidades máximas recomendadas de electrolitos y minerales.

Conclusión

Los estudios de eficacia, seguridad y farmacoeconomía demuestran que la NPP es un recurso terapéutico muy útil en determinadas situaciones clínicas tanto médicas como quirúrgicas para evitar el deterioro metabólico-nutricional del paciente lo que repercute en una reducción significativa de las complicaciones, del número de exploraciones y de la estancia hospitalaria. A día de hoy la NPP puede llegar a suponer el 50 % de las NPs prescritas en un centro hospitalario.

Colaboradores

Balsa J, Calvo V, García Peris P, Gómez Candela C, Matías P, Piñeiro G, Planas M, Robledo P, Sánchez Nebra J y Seco C.

Agradecimientos: SENPE agradece a Baxter Lab su colaboración y apoyo en la realización de las Mesas de Trabajo.

Referencias

1. Anderson ADG, Palmer D, Mc Fie J. Peripheral parenteral nutrition. *British J of Surg* 2003, 90:1048-1054
2. Braga M, Gianotti L, Vignali A y cols. Artificial nutrition after major abdominal surgery: Impact of route of administration and composition of the diet. *Crit Care Med* 1998, 26:24-30.
3. Correia MITD, Guimarães L, Cirino de Mattos KC y cols. Peripheral parenteral nutrition: an option for patients with an indication for shortterm parenteral nutrition. *Nutr Hosp* 2004, 19:14-18.
4. Culebras JM, Martín-Peña G, García de Lorenzo A, y cols. Practical aspects of peripheral parenteral nutrition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004, 7:303-307.
5. De longhe B, Appere-De-Vechi C, Fournier M y cols. A prospective survey of nutritional support practices in intensive care unit patients: What is prescribed? What is delivered? *Crit Care Med* 2001, 29:8-12.
6. Everitt NI, Madam M, Alexander D y cols. Fine bore silicone rubber and polyurethane catheters for the delivery of complete intravenous nutrition via a peripheral vein. *Clin Nutr* 1993, 12:261-265.
7. Makarewicz PA, Freeman JB, Fairfull-Smith R. Prevention of Superficial Phlebitis During Peripheral Parenteral Nutrition. *Am J Surg* 1986, 151:126-129
8. Payne-James JJ, Khawaja HT. First choice for total parenteral nutrition: the peripheral route. *JPEN* 1993; 17:468-447
9. Romero JA, Ibáñez GC, Correa M, Martí E. Incidencia de flebitis en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal sometidos a nutrición parenteral periférica. *Nutr Hosp* 1996, 11:63-65.
10. Sagalés Torra M. Influencia de la Nutrición Parenteral Periférica Hipocalórica precoz en el post-operatorio de neoplasia gastrointestinal. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. 2005.
11. Valero Zanuy Ma A, Alvarez Nido R, García Rodríguez P, y cols. ¿Se considera la hidratación y la nutrición artificial como un cuidado paliativo? *Nutr Hosp* 2006; 21:680-685
12. Woodcock NP, Zeigler D, Palmer MI, y cols. Enteral versus parenteral nutrition: a pragmatic Study. *Nutrition* 2001; 17:1-12.

Original

Soporte nutricional en pacientes con abdomen abierto

J. O. Velázquez G.*, J. P. Urbistazu**, M. Vargas U.***, I. Guedez**** y M.^a Cadenas*****

*Cirujano General. MSVC. **Residente III año Cirugía. ***Médico Nutrólogo. ****Residente I año Cirugía. *****Residente I año Cirugía. Servicio de Cirugía I Hospital Universitario Ángel Larralde IVSS. Valencia. Venezuela.

Resumen

Objetivos: El soporte nutricional es fundamental en los pacientes con trauma severo para disminuir los efectos de la respuesta inflamatoria sistémica y el hipermetabolismo. Se diseñó un protocolo para evaluar la tolerancia y eficacia y del soporte nutricional, así como la evolución clínica en los pacientes post-operados con abdomen abierto.

Pacientes y métodos: Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo de pacientes intervenidos quirúrgicamente a quienes se les dejó el abdomen abierto con bolsa de Bogotá y recibieron soporte nutricional. Fueron excluidos del estudio aquellos pacientes que permanecieron menos de 4 días con el abdomen abierto. Un grupo recibió nutrición parenteral total (NPT) con mezclas tres en uno, otro grupo recibió nutrición enteral a través de yeyunostomía con aguja y catéter y un tercer grupo recibió soporte nutricional mixto.

Ambiente: Servicio de Cirugía I del Hospital Universitario Ángel Larralde. IVSS Valencia (Venezuela). Período del estudio entre mayo del 2002 a mayo del 2005.

Resultados: Ingresaron 24 pacientes al estudio, 46% recibió soporte nutricional mixto (enteral y parenteral), 33% exclusivamente NPT y 31% exclusivamente nutrición enteral. 75% evolucionaron favorablemente egresando al domicilio en buenas condiciones generales, 25% fallecieron debido a falla múltiple de órganos por sepsis severa.

En relación al soporte nutricional, 66% de los pacientes no presentaron complicaciones, de los que recibieron nutrición parenteral 21% presentaron hiperglicemia y de los que recibieron nutrición enteral 13% presentaron diarrea. En cuanto a la eficacia de la nutrición enteral 69% de los pacientes alcanzaron el 80% de la meta caló-

NUTRITIONAL SUPPORT IN PATIENTS WITH OPEN ABDOMEN

Abstract

Objective: We have designed a protocol to evaluate the tolerance, effectiveness and the nutritional support in post-surgical patients with an open abdomen.

Patients and methods: We have made a prospective descriptive study of patients submitted to surgery and left with an open abdomen with a Bogotá bag, and have received nutritional support. The patients who have stayed for less than 4 days with the open abdomen were excluded. A group received total parenteral nutrition (TPN) with mixtures all in one; another group received enteral nutrition (EN) through a needle catheter jejunostomy (NCJ) and a third group received mixed nutritional support. To evaluate the tolerance to EN, we have included those patients receiving this type of nutrition for at least 4 consecutive days without having diarrhea or pain. A jejunostomy catheter was placed in all patients by need or puncturing during the surgical act.

Setting: The Surgical Department I of Ángel Larralde University Hospital, I.V.S.S. Valencia - Venezuela, during the period from May 2002 to May 2005.

Results: 24 patients entered the study, 46% received mixed nutritional support (Enteral and Parenteral), 33% exclusively TPN, and 31% exclusively EN. 75% have evolved favorably, discharged to their home in good general condition; 25% died from multiple organ failure due to severe sepsis.

About nutritional support, 66% of the patients did not present complications; 21% of those receiving TPN presented hyperglycemia; and 13% of those receiving EN presented diarrhea. About EN effectiveness, 69% of the patients have reached 80% of the estimated caloric objective within days 4-5 from the beginning of formula administration.

Conclusions: The integral care of the patients with an open abdomen, added to a nutritional support regimen tailored to each patient's condition can help decreasing

Correspondencia: Jesús Velásquez Gutiérrez
Servicio de Cirugía I
Hospital Universitario Ángel Larralde IVSS
Valencia (Venezuela)
E-mail: jvelazquezg@intercable.net.ve

Recibido: 13-III-2006.

Aceptado: 16-XI-2006.

rica estimada entre el 4° y 5° día del inicio de la administración de la fórmula.

Conclusión: El cuidado integral de los pacientes con abdomen abierto, sumado a un esquema de soporte nutricional que se ajuste las condiciones de cada paciente puede ayudar a disminuir la respuesta hipermetabólica así como la morbilidad y mortalidad.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:217-22)

Palabras clave: *Abdomen abierto. Soporte nutricional. Yeyunostomía. Bolsa de Bogotá.*

Introducción

Durante las últimas tres décadas se han alcanzado avances significativos en el manejo quirúrgico de pacientes críticos. Una de las técnicas que se ha desarrollado es el concepto de dejar abierta la cavidad abdominal, procedimiento que se ha utilizado en un grupo selectivo de pacientes con trauma abdominal, infección severa intraabdominal o síndrome compartamental abdominal¹. Se han propuesto diferentes alternativas en el manejo de las heridas para suministrar una cobertura segura a las vísceras, liberar la tensión de la pared abdominal y disminuir la presión intraabdominal; estas medidas incluyen el uso de suturas de retención para reforzar el cierre de la fascia, mallas sintéticas absorbibles y no absorbibles y pinzas de campo para el cierre de la piel solamente. En el Servicio de Cirugía I del Hospital Universitario Ángel Larralde Valencia, Venezuela se utilizan las bolsas de PVC de las soluciones de uso intravenoso. Este procedimiento fue utilizado por primera vez en el Hospital San Juan de Dios en Bogotá por el Dr. Oswaldo Borrás y es conocido mundialmente como bolsa de Bogotá².

El manejo nutricional de estos pacientes es complejo y a la hora de estimar sus requerimientos hay que tomar en consideración varios factores tales como respuesta al estrés, cicatrización e infecciones asociadas. La vía de administración enteral tiene algunas limitaciones debido a trastornos de motilidad por edema intestinal, disminución de la absorción por isquemia esplácnica y alteración en el transporte transcelular. A pesar de que todos estos elementos constituyen una limitante para el uso de la vía enteral, no debemos dejar de considerar esta opción, ya que sabemos los beneficios que representa para el paciente crítico el uso de la vía enteral, sobre todo en el papel que desempeña sobre la respuesta inflamatoria sistémica. Por otra parte, la vía parenteral se recomienda para pacientes con edema intestinal masivo³.

Pacientes y métodos

Se realizó un estudio prospectivo descriptivo de los pacientes admitidos en el Servicio de Cirugía I del

the hypermetabolic response, as well as morbidity and mortality.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:217-22)

Key words: *Open abdomen. Nutritional support. Jejunostomy. Bogotá Bag.*

Hospital Universitario Ángel Larralde del Seguro Social en Valencia, Venezuela desde mayo del 2002 hasta mayo del 2005 quienes requirieron manejo con abdomen abierto y soporte nutricional. De un universo de 31 pacientes, fueron seleccionados 24 para ingresar al estudio. Pacientes a quienes se les realizó el cierre definitivo del abdomen en 4 días o menos fueron excluidos del estudio. Todos los pacientes estudiados fueron mayores de 18 años de edad. Para evaluar la tolerancia a la nutrición enteral se incluyeron aquellos pacientes que recibieron este tipo de nutrición al menos durante 4 días consecutivos sin presentar diarrea o dolor. A todos los pacientes se les colocó un catéter de microyeyunostomía por punción con aguja durante el acto quirúrgico, utilizando para ello un catéter Cavafix® 14G o en su defecto un tubo de infusión de soluciones intravenosas utilizando la misma técnica quirúrgica⁴. Asimismo se les colocó un catéter venoso central multilúmen para NPT. En aquellos pacientes con edema intestinal importante o sepsis abdominal se inició con NPT manteniendo el catéter de yeyunostomía permeable con la infusión de 500 ml de dextrosa al 5% a razón de 10 gotas por minuto, con la finalidad de mantener el estímulo trófico sobre la vellosidad intestinal.

Los requerimientos de energía se estimaron utilizando el método directo de 25 a 30 calorías/kg/día. Los requerimientos de proteínas se estimaron en un rango de 1,4 a 1,5 gramos/kg/día⁵.

La fórmula enteral empleada fue adn Nutricomp® (BBraun Chile-Lab Behrens, Venezuela) a una dilución de 1 caloría/cc. Los pacientes que recibieron nutrición parenteral lo hicieron mediante mezcla total de nutrientes en bolsas "tres en uno" con Dextrosa al 50%, aminoácidos al 10% (Poliamin® Lab Behrens, Venezuela), Lipofundin MCT/LCT® al 20% (BBraun Alemania), electrolitos, vitaminas y elementos traza de acuerdo a los requerimientos de cada caso en particular. La eficacia de la nutrición enteral fue definida como la capacidad para nutrir a los pacientes con al menos el 80% de los requerimientos calóricos estimados; y la intolerancia fue definida como aquella donde se presentaron evacuaciones líquidas en volumen mayor de 500 ml por lo menos

tres veces al día. También se registraron otros datos como tipo, dosis de antibióticos y duración del tratamiento.

Los datos fueron recolectados desde el inicio del soporte nutricional hasta el momento del egreso. El aporte calórico diario por nutrición enteral para cada paciente fue calculado multiplicando el volumen diario administrado por la densidad calórica de la fórmula enteral (1 caloría/cc). En cuanto a la nutrición parenteral total la estimación de las calorías administradas se realizó de acuerdo al volumen de cada uno de los macronutrientes en base a su concentración (Dextrosa al 50%, aminoácidos al 10%, emulsión lipídica al 20%).

A todos los pacientes se les realizaron exámenes de laboratorio al ingreso (hematología, glicemia, creatinina, PT, PTT, pruebas de funcionalismo hepático, proteínas totales y fraccionadas, triglicéridos, electrolitos), y controles de acuerdo a los parámetros establecidos en protocolos de soporte nutricional⁶.

Resultados

Del total de 24 pacientes que ingresaron al estudio, 19 fueron hombres y 5 mujeres, con una edad promedio entre 18 y 84 años. Los diagnósticos fueron trauma abdominal, sepsis, pancreatitis y necrosis intestinal.

Edad, sexo, diagnóstico y evolución se muestran en la tabla I.

Se puede apreciar que la mayoría de la muestra fue del sexo masculino, 79% (N = 19). El sexo femenino representó el 21% (N = 5) (fig. 1)

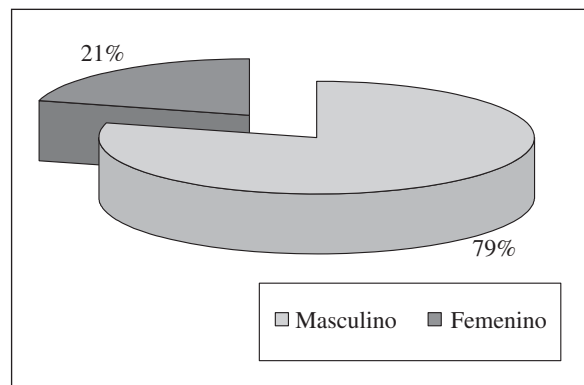


Fig. 1.—Distribución de los pacientes por sexo.

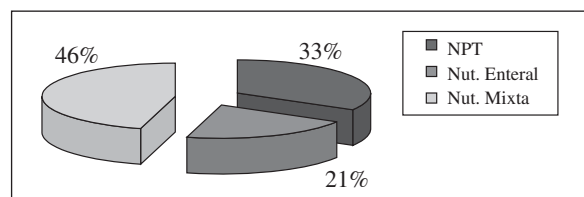


Fig. 2.—Distribución de acuerdo al tipo de soporte nutricional.

Edad	Sexo	Diagnóstico	Evolución
83	M	Necrosis intestinal	Favorable. Egreso
49	M	Pancreatitis aguda	Favorable. Egreso
62	F	Pancreatitis aguda	Favorable. Egreso
50	M	Sepsis abdominal	Favorable. Egreso
18	M	Pancreatitis aguda	Favorable. Egreso
40	F	Absceso intraabdominal	Favorable. Egreso
46	M	Sepsis abdominal	Favorable. Egreso
50	M	Necrosis intestinal	Favorable. Egreso
56	M	Sepsis abdominal	Muerte
84	M	Sepsis abdominal	Muerte
24	M	Trauma abdominal	Favorable. Egreso
34	M	Pancreatitis aguda	Favorable. Egreso
33	F	Necrosis intestinal	Favorable. Egreso
23	M	Trauma abdominal	Favorable. Egreso
32	F	Sepsis abdominal	Favorable. Egreso
48	M	Sepsis abdominal	Muerte
30	M	Sepsis abdominal	Muerte
19	M	Sepsis abdominal	Favorable. Egreso
48	M	Pancreatitis aguda	Favorable. Egreso
53	M	Pancreatitis aguda	Favorable. Egreso
69	M	Pancreatitis aguda	Muerte
41	M	Pancreatitis aguda	Favorable. Egreso
18	F	Pancreatitis aguda	Favorable. Egreso
66	M	Fuga de anastomosis	Muerte

Fuente: Archivo de Historias Médicas del Hospital Universitario Ángel Larralde. IVSS.

En cuanto al tipo de soporte nutricional que se les administró, 33% (N = 8) de los pacientes recibieron exclusivamente NPT, 21% (N = 5) nutrición enteral exclusiva y 46% (N = 11) recibieron soporte nutricional mixto (fig. 2).

En el siguiente gráfico se puede apreciar que el diagnóstico con mayor porcentaje fue pancreatitis aguda 38% (N = 9), seguida por sepsis punto de partida abdominal 33% (N = 8) patologías donde el abdomen abierto y el soporte nutricional constituyen parte fundamental en su manejo. Las otras patologías están representadas por necrosis intestinal 13% (N = 3), trauma abdominal 8% (N = 2), Absceso intestinal y fuga de anastomosis 4% (N = 1) (fig. 3).

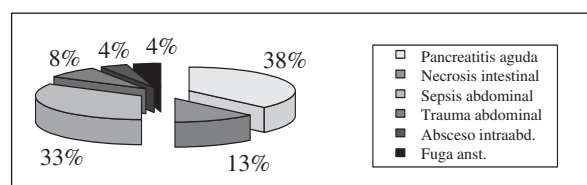


Fig. 3.—Distribución de los pacientes por diagnóstico.

El aporte calórico a través de NPT fue entre 1.600 y 1900 calorías (± 1.800 calorías), con una duración promedio entre 7 y 38 días.

El aporte calórico a través de nutrición enteral fue entre 1.800 y 2.000 calorías (± 1.800 calorías) con una duración entre 8 y 40 días.

Los pacientes permanecieron con el abdomen abierto y bolsa de Bogotá entre 4 y 28 días y la estancia hospitalaria se mantuvo entre 10 y 90 días.

75% de los pacientes (N = 18) evolucionaron favorablemente egresando en buenas condiciones generales, 25% (N = 6) fallecieron a consecuencia de falla multiorgánica punto de partida sepsis, y un caso por pancreatitis aguda complicada (fig. 4).

En cuanto a las complicaciones inherentes al soporte nutricional, 21% de los pacientes (N = 5) presentaron hiperglicemia (cifras de glicemia mayores a 120 mg/dl) relacionada con NPT, fueron manejados con insulina cristalina dentro de las mezclas de NPT e insulina subcutánea de acuerdo a esquemas previamente establecidos. De los pacientes que recibieron nutrición enteral 13% (N = 3) presentaron diarrea y 66% (N = 16) no presentaron complicaciones (fig. 5).

69% de los pacientes que recibieron nutrición enteral (N = 11) alcanzaron la meta del 80% de las calorías totales entre el 4º y 5º día del inicio de la administración de la fórmula, 31% (N = 5) no alcanzaron este objetivo por presentar diarrea o intervenciones repetidas (fig. 6).

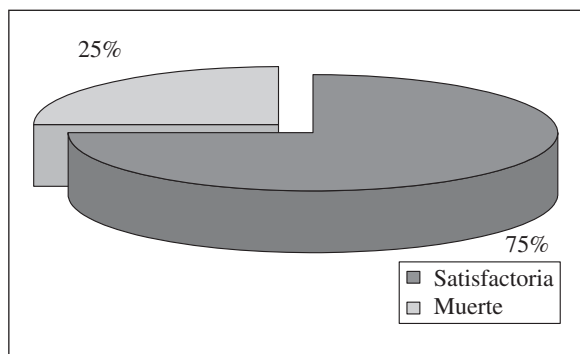


Fig. 4.—Distribución de acuerdo a la evolución.

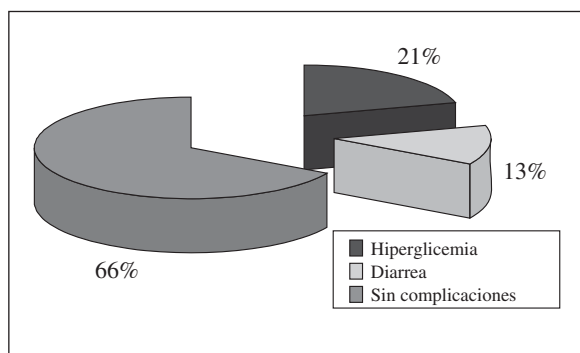


Fig. 5.—Complicaciones inherentes al Soporte Nutricional.

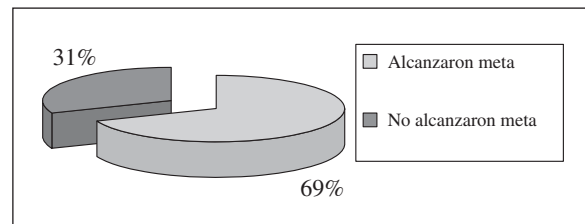


Fig. 6.—Eficacia de la nutrición enteral.

Discusión

La hipertensión intraabdominal tiene consecuencias negativas tanto abdominales como generales. Desde hace algún tiempo se reconocieron los efectos adversos de la hipertensión abdominal sobre el flujo sanguíneo visceral. Se ha comprobado una reducción del flujo sanguíneo hacia todas las vísceras abdominales, con repercusión importante sobre el lecho esplácnico, lo que produce un efecto directo sobre la vascularización del intestino delgado observándose aumento de la acidosis de la mucosa intestinal con el aumento de la presión intraabdominal⁷.

En la actualidad se reconoce la importancia del soporte nutricional, sobre todo la nutrición enteral, en disminuir el riesgo de infección y de insuficiencia orgánica múltiple después de traumatismos craneoencefálicos, de tórax y/o abdomen⁸⁻¹¹. En el caso de los pacientes con abdomen abierto la vía de elección para la administración del soporte nutricional va a depender en gran parte de las condiciones locales del intestino delgado³, a pesar de las condiciones adversas, se ha logrado demostrar el efecto positivo del soporte nutricional en pacientes con abdomen abierto¹²⁻¹⁴.

Sin embargo, suministrar soporte nutricional adecuado a pacientes con abdomen abierto bien sea por vía parenteral o enteral representa un gran reto¹⁵.

En este estudio se incluyeron 24 pacientes con abdomen abierto que ameritaron soporte nutricional, 46% de la muestra (N = 11) recibieron soporte nutricional mixto iniciándose con NPT posterior a la estabilización hemodinámica, el aporte calórico promedio fue de 1.800 calorías con una duración mínima de 7 días y un máximo de 38 días. 33% (N = 8) recibieron exclusivamente NPT debido a las condiciones locales de edema intestinal importante a consecuencia de sepsis abdominal severa¹⁶. La nutrición enteral se inició al 4º día del post-operatorio a una velocidad de 15 ml/hora alcanzando el 80% de la meta entre el 4º y 5º día en el 69% de los pacientes, con un aporte calórico promedio de 1.800 calorías y una duración entre 8 y 40 días. Otros autores han reportado alcanzar el 75% de la meta a los 14 días del inicio de la nutrición enteral¹². Muchos estudios reportan los beneficios de la nutrición enteral temprana en pacientes con estrés hipermetabólico^{11,16-19}. En algunos casos hubo necesidad de interrumpir la nutrición enteral debido al reingreso de algunos pacientes al quirófano para lavado de la cavidad abdominal.

La pancreatitis aguda y la sepsis abdominal representaron el mayor porcentaje de diagnósticos (38% y 33% respectivamente) patologías donde está ampliamente demostrado el beneficio del soporte nutricional temprano, sobre todo los beneficios de la nutrición enteral en disminuir la respuesta hipermetabólica²⁰⁻²².

En cuanto a la mortalidad, 25% de los pacientes fallecieron a consecuencia de falla múltiple de órganos, cifra que se mantiene dentro de los parámetros publicados por otros autores^{12,23}.

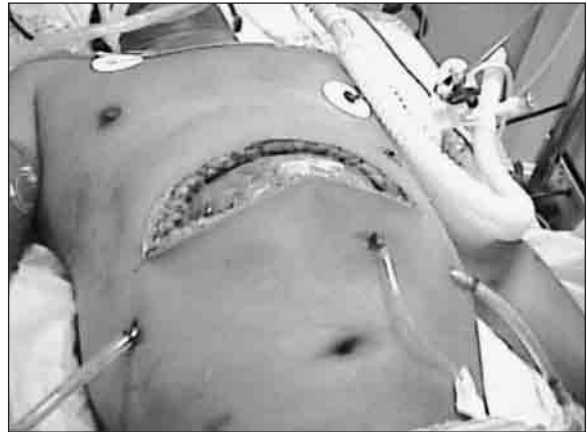
En relación a las complicaciones inherentes al soporte nutricional, 21% de los pacientes (N = 5) que recibieron NPT presentaron hiperglicemia, definida esta como cifras de glicemia $\geq$ a 120 mg/dl^{24,25} estos casos fueron manejados con insulina subcutánea y en las soluciones de NPT de acuerdo a protocolos previamente establecidos²⁵. De los pacientes que recibieron nutrición enteral 13% (N = 3) de ellos presentaron diarrea. Considerando que la etiología de la diarrea puede ser multifactorial, se evaluó el tratamiento prolongado con antibióticos, edema intestinal, hipoalbuminemia. En todos los casos, cuando se presentó la diarrea se disminuyó la velocidad de infusión de la fórmula y en un caso hubo necesidad de suspenderla por 48 horas.

Los pacientes que ingresaron a este estudio permanecieron entre 4 y 28 días con el abdomen abierto y bolsa de Bogotá evolucionando la mayoría de ellos (75%) de manera satisfactoria.

En resumen, dejar el abdomen abierto en casos seleccionados de trauma o sepsis abdominal constituye una alternativa para evitar las consecuencias de la hipertensión abdominal y el síndrome compartimental abdominal. Asimismo, múltiples estudios reportan los beneficios del soporte nutricional, sobre todo la nutrición enteral, en disminuir la morbilidad y mortalidad en pacientes traumatizados críticamente enfermos. En este estudio se refleja la factibilidad de realizar soporte nutricional en pacientes con abdomen abierto, de igual forma, se sugiere el acceso del intestino delgado a pesar de las condiciones locales adversas e iniciar nutrición enteral temprana en casos seleccionados.



Abdomen abierto con sonda de yeyunostomía.



Abdomen abierto con yeyunostomía para nutrición enteral.



Paciente anterior recuperado.

Referencias

1. Tsuei B, Magnuson B, Swintosky y cols. Enteral Nutrition in patients with an open peritoneal cavity. *NCP* 2003; 18: 253-258.
2. Borráz OA. Abdomen abierto. Infección en Cirugía. Edit Panamericana, 2001.
3. Hawdieshell T. Nutritional considerations for the patient with an open abdomen. 23rd ASPEN Clinical Congress. Post-Graduate Course 8, 1999.
4. Velázquez J, Riera J, Velázquez A. Microyeyunostomía con aguja y catéter, una alternativa en nutrición enteral precoz. *Revista Venezolana de Cirugía* 2004; 57 (3): 130-136.
5. Sacks G. Enhancing the response to parenteral nutrition in critical care. *NCP* 2003; 19: 226-234.
6. Velázquez J. Manual de Nutrición Parenteral. 3ª Edición. Laboratorio Behrens, 2003.
7. Caldwell CB, Ricotta D. Evaluation of intra-abdominal pressure and renal hemodynamics. *Curr Surg* 1986; 43: 495.
8. Ivatury R, Diebel L, Porter J, Simon R. Hipertensión intraabdominal y síndrome del compartimiento abdominal. *Clínicas Quirúrgicas de Norteamérica* 1997; 4:779-795.
9. Kuds KA, Croce MA, Fabian TC y cols. Enteral vs Parenteral feeding. *Ann Surg* 1991; 215: 503-512.
10. Ledgerwood A, Lucas C. Postoperative complications of abdominal trauma. *Surg Clin North Am* 1990; 70: 715-731.

11. Moore FA, Moore EE, Jones TN y cols. Enteral vs TPN following major abdominal trauma-reduced septic morbidity. *J Trauma* 1989; 29: 916.
12. Kuds KA. Surgical ICU: Management of the patient with a major abdominal wound and sepsis. 25th ASPEN Clinical Congress. Post-Graduate Course 7, 2001.
13. Cathren CC, Moore EE, Cielisa DJ y cols. Post injury abdominal compartment syndrome does not preclude early enteral feeding after definitive closure. *Am J Surg* 2004; 188 (6): 653-8.
14. McKibbin B, Cresci C, Hawkins M. Nutrition support for the patient with an open abdomen after abdominal trauma. *Nutrition* 2003; 19 (6): 536-6.
15. Wayner Dr, Elmore MF, Tote JT. Combined parenteral and enteral nutrition in severe trauma. *NCP* 1992; 7: 113-116.
16. Guidelines for the use of Parenteral and Enteral Nutrition in Adult and Pediatric Patients. *JPEN* 2001; 17: 52-53.
17. Braga M, Gianotti L, Vignoli A y cols. Artificial nutrition after major abdominal surgery: impact of route of administration and composition of the diet. *Crit Care Med* 1998; 26: 24-30.
18. Zaloga GP, Bortenschlayer L, Black KW y cols. Immediate post operative enteral feeding decreases weigh loss and improves wound healing after abdominal surgery in rats. *Crit Care* 1992; 20: 115-118.
19. Hoover HC, Ryan JA, Anderson EJ y cols. Nutrition benefits of immediate postoperative jejunal feeding of an elemental diet. *Am J Surg* 1980; 139: 153-159.
20. McClave SA. Nutrition and Pancreas. ASPEN 25th Clinical Congress. Program Book 2001; 309-314.
21. Windsor A, Kanwar S, Li A y cols. Compared with parenteral nutrition, enteral feeding attenuates the acute phase response and improves disease severity in acute pancreatitis. *Gut* 1998; 42: 431-5.
22. Velázquez JO, Riera JC, Latouche M y cols. Protocolo de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la pancreatitis aguda. *Revista Venezolana de Cirugía* 2004; 57; 2: 65-73.
23. Trembay LN, Feliciano DV, Schmidt J y cols. Skin only or silo closure in the critically ill patient with an open abdomen. *Am J Surg* 2001; 182: 670.
24. McMahon MM. Management of Parenteral Nutrition in Acutely ill patient with hyperglycemia. *NCP* 2004; 19: 120-128.
25. McCowen K. Hyperglycemia and nutrition support: theory and Practice. *NCP* 2004; 19: 235-244.

Original

¿Influye la cerveza en el aumento de peso? Efectos de un consumo moderado de cerveza sobre la composición corporal

J. Romeo*, M. González-Gross**, J. Wärnberg*, L. E. Díaz* y A. Marcos*

*Grupo Inmunonutrición. Departamento de Metabolismo y Nutrición. Instituto del Frío. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. **Facultad de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte. Universidad Politécnica de Madrid. España.

Resumen

Introducción: Son numerosos los estudios que han investigado los efectos del consumo de alcohol en el peso corporal, sugiriendo una relación tanto inversa como positiva en relación al peso y la grasa corporal.

Objetivo: Examinar la relación entre un consumo moderado de cerveza y el peso corporal en una población adulta española sana.

Material y métodos: Después de un período de 30 días de abstinencia alcohólica, 58 voluntarios sanos (31 varones y 27 mujeres) fueron sometidos a un consumo moderado de cerveza diario durante los 30 días siguientes. Se evaluaron los parámetros antropométricos correspondientes a la talla, peso, pliegues cutáneos y perímetros, al principio del estudio (a), tras un mes de abstinencia de alcohol (b), y tras un mes de consumo moderado de cerveza (c).

Resultados: Se observó un aumento significativo ($p < 0,05$) en el pliegue bicipital (mm) en el grupo de los hombres tras el consumo moderado de cerveza al compararlo con el mes de abstinencia ($5,74 \pm 1,70$ vs $6,23 \pm 1,74$). No se observaron cambios en el resto de los parámetros antropométricos estudiados a lo largo del estudio, ni en el grupo de las mujeres ni en el de los hombres.

Conclusión: En una población adulta sana, el consumo moderado de cerveza durante un mes no modifica los parámetros ponderales, ni los relacionados con la composición corporal a excepción del pliegue bicipital en los hombres.

(Nutr Hosp. 2007;22:223-8)

Palabras clave: Consumo moderado de alcohol. Cerveza. Composición corporal. IMC.

DOES BEER HAVE AN IMPACT WEIGHT GAIN? EFFECTS OF MODERATE BEER CONSUMPTION ON BODY COMPOSITION

Abstract

Background: The effects of alcohol consumption on body weight have been evaluated in a large number of studies suggesting to be inversely as well as positively related to body weight and body fat.

Objective: This study examined the relationships between moderate beer consumption and anthropometrical parameters in Spanish healthy adults.

Method: After a 30 day alcohol abstemious period, 58 healthy volunteers were submitted to a daily moderate consumption of beer during the following 30 days. Weight, height, skinfolds and circumferences were measured at three points: a) basal; b) abstemious and c) after moderate consumption of beer.

Results: Biceps skinfold (mm) increased ($p < 0.05$) in men after moderate beer consumption in regard to abstinence period (5.74 ± 1.70 vs 6.23 ± 1.74). No significant differences were observed in the rest of anthropometrical parameters studied in both women and men along the study intervention.

Conclusion: Moderate beer consumption during one month did not mostly change weight and weight-related parameters in healthy adults.

(Nutr Hosp. 2007;22:223-8)

Key words: Moderate alcohol consumption. Beer. Body weight. BMI.

Correspondencia: Prof. Ascensión Marcos
Dpto. de Metabolismo y Nutrición
Instituto del Frío
Consejo Superior de Investigaciones Científicas
José Antonio Novais, 10
28040 Madrid

Recibido: 9-XI-2006.
Aceptado: 20-XI-2006.

Introducción

Si bien es cierto que son numerosos los estudios que han relacionado el consumo de alcohol con un incremento de los riesgos asociados con la salud, de un tiempo a esta parte, ha aumentado el interés por conocer los efectos de un consumo moderado de alcohol y concretamente de cerveza, sobre la salud, debido a las cantidades apreciables de nutrientes y compuestos vegetales secundarios que aporta este tipo de bebida alcohólica fermentada. El estudio del consumo de alcohol (preferentemente vino y cerveza) a menudo se ha centrado en la población alcohólica, es decir, personas con ingestas excesivas de alcohol. Sin embargo, hay poca información sobre la valoración de ingestas moderadas de alcohol en muestras representativas de la población, sobre todo en países mediterráneos.

La mayoría de los estudios que han investigado los efectos del consumo de alcohol sobre el peso corporal, sugiriendo una relación tanto inversa como positiva en relación al peso y la grasa corporal, son epidemiológicos. En términos de contribución a la regulación del peso, se ha sugerido que no existe una relación entre la ingesta de alcohol y el peso corporal^{1,2}. Los nutrientes son capaces de influir en la regulación del peso corporal, y aunque el alcohol no está considerado como un nutriente como tal (ya que aporta únicamente calorías vacías), algunos autores sí lo tienen en cuenta por su contribución al aporte energético^{3,4}. Debido a que el alcohol es tóxico y no se puede almacenar en el cuerpo, el organismo posee un mecanismo de oxidación continua que le obliga a utilizarlo como fuente de energía prioritaria, metabolizándose rápidamente.

Una revisión realizada por Suter⁵ reveló que existían aproximadamente los mismos estudios que encontraban una relación positiva entre el peso corporal y la ingesta de alcohol y los que definían una relación negativa entre ambos parámetros. Por lo tanto, está claro que no existe un consenso general. Con respecto a la cerveza, su consumo se ha relacionado popularmente con la ganancia de peso y la típica "barriga cervecera", asociándose básicamente con un mayor índice cintura/cadera (ICC) y una mayor ingesta energética total⁶. En cualquier caso, los estudios referentes a la asociación entre la ingesta de cerveza y la obesidad abdominal son escasos y en absoluto, concluyentes.

Teniendo en cuenta la escasez de estudios de intervención que han investigado los efectos del consumo de alcohol sobre la composición corporal, dado el interés que tiene el tema en relación con la afirmación de muchos autores sobre el efecto protector de un bajo o moderado consumo de alcohol sobre las enfermedades cardiovasculares y otras patologías, y la constatación de la falta de datos sobre el consumo de cerveza y la composición corporal, hemos estudiado la influencia del consumo moderado de cerveza durante un mes sobre algunos parámetros de la composición corporal en una población adulta sana.

Sujetos y métodos

Sujetos

El presente estudio se engloba dentro de un estudio de intervención más amplio destinado a valorar el efecto de un consumo moderado de cerveza sobre el estado nutricional e inmunológico de adultos sanos. Éste se ha llevado a cabo en 58 sujetos sanos de ambos sexos (27 mujeres y 31 varones) con una edad media ($\pm$ DS) de $37,66 \pm 9,19$ años para las mujeres y de $35,00 \pm 6,11$ años para los hombres; y con una talla de $160,52 \pm 6,97$ cm y $173,86 \pm 8,10$ cm (media $\pm$ DS) para mujeres y hombres respectivamente.

Los participantes se presentaron voluntariamente al estudio, y después de una charla informativa, todos los sujetos firmaron un consentimiento informado. Ninguno de los voluntarios tenía antecedentes familiares ni personales de abuso de alcohol ni patologías que desaconsejaran un consumo moderado de bebidas alcohólicas. Todo el estudio se desarrolló según las normas deontológicas reconocidas en la Declaración de Helsinki, revisada por el World Medical Council en la 52 Asamblea General de la Asociación Mundial de Medicina celebrada en el año 2000 en Edimburgo, Escocia.

Métodos

Se eligió un diseño de intervención longitudinal en el que cada sujeto fue su propio control. El periodo experimental fue de dos meses, durante los cuales todos los sujetos siguieron con sus hábitos de vida y de alimentación habituales. La única modificación introducida fue referente al consumo de bebidas alcohólicas. Durante el primer mes, todos los sujetos tuvieron que abstenerse de cualquier consumo de alcohol. Durante el segundo mes, tuvieron que consumir la cantidad correspondiente a lo que hemos definido como consumo moderado de cerveza, es decir, 12 g/día para mujeres (330 ml de cerveza de 4,5% vol.) y 24 g/día para varones (660 ml de cerveza de 4,5% vol.)⁴. Antes de comenzar el estudio (a), después del período de abstinencia (b) y después del período de un consumo moderado de cerveza (c), se evaluaron los siguientes parámetros antropométricos: talla, peso, pliegues (bicipital, tricipital y subescapular); y los perímetros correspondientes a: brazo, cintura y cadera.

La talla se midió mediante tallímetro incorporado a la báscula modelo Seca 714 (rango 60-200 cm). El individuo se colocó de pie, descalzo, con la cabeza de forma que el plano de Frankfurt, que une el borde inferior de la órbita de los ojos y el superior del meato auditivo externo, sea horizontal, con los pies juntos, rodillas estiradas, talones, nalgas y espalda en contacto con la pieza vertical del aparato medidor. Los brazos permanecieron colgantes a lo largo de los costados con las palmas dirigidas hacia los muslos. La pieza horizontal y móvil del aparato se bajó hasta contactar con la cabeza del individuo, presionando ligeramente

el pelo. En el marcador se leyó la unidad completa más cercana.

El peso se midió mediante báscula modelo Seca 714 con precisión de 100 g (rango 0,1-130 kg). Cada día antes de comenzar la medición se controló la precisión de la báscula. La medición se realizó con el individuo en ropa interior, colocado encima de la báscula, sin apoyarse en ningún sitio. Se anotó la unidad completa más próxima.

Todos los pliegues se midieron en el lado no dominante del cuerpo utilizando un lipocalibre HOLTAIN (presión constante, 10 g/mm² y precisión, 0,2 mm). Las medidas fueron realizadas por triplicado, calculándose la media de los tres valores obtenidos. Para la medida del espesor del tejido adiposo subyacente a la piel, se separó un pliegue de tejido superficial sujetándolo firmemente con los dedos pulgar e índice de la mano izquierda, teniendo especial cuidado en no arrastrar con el pliegue alguna fibra de tejido muscular, y situando sobre él y alejado unos 2 cm de los dedos, el lipocalibre. Las mediciones se leyeron a los 2 segundos permitiendo que la lectura del lipocalibre se estabilizara.

El pliegue bicipital se midió separando un pellizco superficial en el brazo izquierdo, sobre la cara anterior del bíceps braquial, en posición vertical y en el punto medio entre el acromion y olécranon (la misma zona donde se midió el perímetro del brazo). El pliegue tricipital se realizó la medida en el mismo lugar que el bicipital pero sobre la región posterior del brazo izquierdo, encima del tríceps, también en posición vertical. El pliegue subescapular se midió en la espalda, con los brazos paralelos al cuerpo, sobre el vértice inferior de la escápula izquierda, de forma que el pliegue siguiese la línea que marca el borde de la misma. La dirección del pliegue es oblicua, formando 45° con la línea horizontal y siguiendo las líneas de pliegues de la piel⁷.

La medición del perímetro del brazo se realizó según las normas establecidas por Lohman⁸, con el antebrazo pegado al cuerpo, relajado y contraído en posi-

ción horizontal, en el punto medio entre el acromion y el olécranon del brazo no dominante. Se utilizó una cinta métrica de acero HOLTAIN (rango 0-150 cm). Para la medición del perímetro correspondiente a la cintura los individuos tuvieron que permanecer de pie, con el abdomen relajado, los miembros superiores colgando junto a los costados y con los pies juntos. Se pasó una cinta métrica inextensible por una línea horizontal que se encuentra equidistante de la última costilla y la cresta ilíaca. En la misma posición adoptada para la medida del perímetro de la cintura, se considerará perímetro de la cadera al máximo que se consigue pasando una cinta métrica de forma horizontal a nivel de la cadera.

El índice de masa corporal (IMC) o índice de Quetelet viene expresado por la relación: peso (kg)/talla² (m²)⁹. El índice cintura/cadera (ICC) está expresado por la relación existente entre el perímetro de la cintura y el perímetro de la cadera.

Tratamiento estadístico de los datos

El tratamiento estadístico de los datos se llevó a cabo en el Centro Técnico de Informática (CTI) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), mediante el programa estadístico SPSS 13.0 en Windows XP. Se realizó un cálculo de los estadísticos básicos (medias y varianzas) y se realizaron pruebas de ajuste de las distribuciones de las distintas variables de la muestra, observándose que todas seguían una distribución normal. Se aplicó el análisis de pares múltiples de Bonferroni. El nivel de significancia estadística se estableció en $p < 0,05$.

Resultados

En las tablas I a II se recogen los valores correspondientes a la valoración antropométrica: talla, peso, pliegues bicipital, tricipital y subescapular; y perímetros de: brazo, cintura y cadera. A lo largo del estudio,

Tabla I
Valores antropométricos, en mujeres ($n = 27$), en estado basal (a), después de un período de abstinencia alcohólica (b) y después de un consumo moderado de cerveza (c)

	Basal (a)	Abstinencia (b)	Cerveza (c)
Peso (kg)	62,76 ± 8,62	62,57 ± 8,25	63,04 ± 8,53
Pliegue bicipital (mm)	8,43 ± 2,61	8,35 ± 3,11	8,31 ± 2,21
Pliegue tricipital (mm)	16,34 ± 4,23	16,40 ± 3,88	16,93 ± 3,86
Pliegue subescapular (mm)	16,92 ± 6,76	17,63 ± 5,68	17,09 ± 6,12
Perímetro brazo (cm)	28,64 ± 2,64	29,10 ± 2,81	29,13 ± 2,76
Perímetro cintura (cm)	74,65 ± 9,58	77,67 ± 5,02	77,56 ± 4,58
Perímetro cadera (cm)	96,53 ± 6,15	95,69 ± 4,68	95,40 ± 4,45
IMC (kg/m ²)	24,40 ± 3,52	24,31 ± 3,25	24,59 ± 3,24
Índice cintura/cadera	0,80 ± 0,05	0,81 ± 0,03	0,81 ± 0,04

Valores expresados como media ± desviación estándar.

No existen diferencias significativas en el test de pares múltiples de Bonferroni.

Tabla II
Valores antropométricos, en hombres ($n = 31$), en estado basal (a), después de un período de abstinencia alcohólica (b) y después de un consumo moderado de cerveza (c)

	Basal (a)	Abstinencia (b)	Cerveza (c)
Peso (kg)	77,00 $\pm$ 8,93	76,77 $\pm$ 8,72	77,31 $\pm$ 9,01
Pliegue bicipital (mm)*	5,90 $\pm$ 1,74 ^a	5,74 $\pm$ 1,70 ^b	6,23 $\pm$ 1,74 ^a
Pliegue tricipital (mm)	11,03 $\pm$ 2,35	10,94 $\pm$ 3,10	11,64 $\pm$ 3,37
Pliegue subescapular (mm)	16,52 $\pm$ 5,73	15,95 $\pm$ 5,60	16,85 $\pm$ 5,56
Perímetro brazo (cm)	30,86 $\pm$ 2,65	31,10 $\pm$ 2,24	30,99 $\pm$ 2,25
Perímetro cintura (cm)	87,53 $\pm$ 3,80	88,24 $\pm$ 3,09	87,90 $\pm$ 2,82
Perímetro cadera (cm)	96,56 $\pm$ 2,70	96,03 $\pm$ 2,53	96,03 $\pm$ 1,89
IMC (kg/m ²)	25,54 $\pm$ 2,38	25,33 $\pm$ 2,26	25,65 $\pm$ 2,35
Índice cintura/cadera	0,89 $\pm$ 0,03	0,90 $\pm$ 0,03	0,90 $\pm$ 0,03

Valores expresados como media $\pm$ desviación estándar.

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los puntos (a, b, c). Test de pares múltiples de Bonferroni.

tanto en el grupo de las mujeres como en el de los varones, no se ha observado ninguna diferencia significativa en cuanto al peso corporal. Con respecto a los pliegues cutáneos, tan solo se observó un aumento significativo ($p < 0,05$) del pliegue bicipital en el grupo de los hombres tras el consumo moderado de cerveza, al compararlo con el mes de abstinencia ($5,74 \pm 1,70$ vs $6,23 \pm 1,74$). El resto de los pliegues cutáneos no se modificó ni en las mujeres ni en los hombres, a lo largo del estudio. Los resultados correspondientes a los perímetros medidos e índices calculados (IMC e ICC) tampoco sufrieron modificaciones a lo largo del estudio, ni en el grupo de mujeres, ni en el de los hombres.

Discusión

A principios de los años 70, los resultados de un estudio sugirieron que una incorporación prolongada de alcohol a la dieta no desencadena una ganancia de peso¹. Este hecho fue puesto en duda una década después, según un estudio epidemiológico desarrollado por Kromhout¹⁰, en el cual se concluyó que el consumo de alcohol podría considerarse como un factor importante en la ganancia de peso. Además, a finales de los años 80, y según el National Research Council¹¹, se sugirió que el consumo excesivo de alcohol está relacionado con un mayor riesgo de aumento de peso y de desarrollo de obesidad. Meyer¹² también han sugerido que el consumo de alcohol, en especial el consumo diario, podría considerarse como un factor de riesgo de sobrepeso y obesidad. En cualquier caso, la relación entre el consumo de alcohol y la ganancia de peso, parece estar influenciado de una manera importante por el patrón de consumo y el tipo de bebida. El alcohol no se puede almacenar en el organismo, y por lo tanto es el primer sustrato energético en metabolizarse para producir energía, y aunque su ingesta supone un aporte “extra” de calorías a la dieta, no está del todo esclarecido si existen mecanismos que compen-

sen esta energía “extra”. Tremblay¹³, ha sugerido que cuando se consume alcohol durante la comida, la cantidad de energía que aporta no se compensa con una disminución de la ingesta energética procedente de macronutrientes, y en consecuencia, la ingesta total de energía aumenta. Por el contrario, también se ha sugerido que la energía procedente del alcohol sufre algún tipo de regulación fisiológica, disminuyendo la ingesta de alimentos, y no derivando así en una ganancia de peso¹⁴.

En el presente estudio no se han observado diferencias en el peso corporal, ni tras el período de abstinencia (b), ni tras el de consumo moderado de cerveza (c), en ninguno de los dos grupos (tablas I y II), por lo que un consumo moderado de cerveza durante un mes no ha modificado los valores correspondientes al peso corporal ni en mujeres ni en hombres. Estos datos resultan interesantes y corroboran la hipótesis de que un consumo moderado de cerveza no conlleva una ganancia ponderal. Además, están en concordancia con los obtenidos de un estudio que analizó las diferencias en los hábitos y estado nutricional de un colectivo de personas (643 jóvenes españoles de entre 18 y 35 años), en función del tipo de bebida consumida de manera habitual, concluyendo que los jóvenes que toman cerveza de manera habitual, tienen una incidencia de sobrepeso/obesidad menor que otros grupos¹⁵. Aunque el consumo moderado de cerveza durante un mes tampoco ha supuesto cambios en la ingesta dietética de energía y macronutrientes¹⁶, resultaría de gran interés estudiar la influencia de este consumo moderado de cerveza en un período de tiempo mayor, y tratar de esclarecer si realmente un consumo de cerveza en cantidades moderadas no va a producir una ganancia de peso o un acúmulo de grasa abdominal a largo plazo.

También se puede observar que no se han producido cambios en los parámetros correspondientes a los pliegues cutáneos y perímetros, tanto en mujeres como en hombres tras un consumo moderado de cerveza

durante un mes (tablas I y II). Tan sólo se ha observado un aumento significativo del pliegue bicipital en los hombres tras el consumo moderado de cerveza (tabla II). Como ya se ha mencionado anteriormente, algunos estudios han observado una asociación positiva entre el consumo de alcohol, la ganancia de peso y acumulación de grasa abdominal¹⁷⁻¹⁹, mientras que otros no han encontrado asociación o ésta ha sido incluso negativa. Cigolini²⁰ han puesto de manifiesto diferencias en el perímetro de la cintura y el índice cintura/cadera en mujeres sanas al aumentar el consumo de alcohol diario, además de una correlación positiva entre la grasa abdominal y la ingesta de alcohol. Por otro lado, autores han encontrado una asociación nula o negativa con respecto a la adiposidad abdominal y el consumo de alcohol, hecho observado tanto en hombres como en mujeres^{21,22}. Otros autores han sugerido una relación positiva entre el consumo de alcohol y el bajo peso corporal^{23,24}, y que el consumo moderado (de alcohol hasta 30 g/día) no está asociado con la ganancia de peso en mujeres (excepto en las mujeres afro-americanas)²⁵. En el presente estudio, observando los valores correspondientes al perímetro de la cintura y de la cadera, y al ICC, se ha comprobado que no se han producido diferencias entre los tres puntos del estudio, por lo que un consumo moderado de cerveza no modifica estos valores significativamente. Vadstrup²⁶ al evaluar la relación entre el perímetro de la cintura y el tipo y cantidad de bebida alcohólica, han sugerido que el consumo de moderado a alto de bebidas alcohólicas y cerveza está relacionado con un mayor perímetro de cintura. Estos autores han encontrado un valor mayor del perímetro de la cintura en aquellos hombres cuyo consumo de cerveza era superior a 21 cervezas por semana durante 10 años y de 14 cervezas en el caso de las mujeres. En nuestro estudio, los hombres consumieron semanalmente 14 cervezas y las mujeres 7. Además, el período de estudio fue de 30 días, por lo que los resultados de ese estudio no son comparables con los nuestros aunque dan cierta idea de que un consumo por encima del que hemos considerado “moderado”, podría traducirse en un aumento del perímetro de la cintura y la cadera. El estudio SU.VI.MAX ha valorado la relación entre el consumo de alcohol, el IMC y el ICC relacionado con el tipo de bebida²⁷. Los resultados revelaron una relación positiva en forma de J entre el consumo total de alcohol y el ICC en ambos sexos y entre el consumo total de alcohol y el IMC solamente en los hombres ($p < 0,05$). La misma relación se observó con el consumo de vino. Los hombres y mujeres que consumieron menos de 100 g de alcohol al día tuvieron valores más bajos de IMC (solamente los hombres) e ICC, que los abstemios y los que consumieron más cantidad de alcohol. Por otro lado, el consumo de bebidas con alto contenido alcohólico estuvo relacionado con un mayor IMC e ICC en ambos sexos.

Por último señalar que los resultados del presente estudio correspondientes al IMC e ICC están en con-

cordancia con las conclusiones de un estudio prospectivo que ha sugerido que es poco probable que la ingesta de cerveza (en su caso: 3,1 L en hombres y 0,3 L en mujeres, a la semana) este relacionado con un aumento importante del IMC o ICC²⁸.

Hay que tener en cuenta que la mayoría de los trabajos sobre el tema son epidemiológicos, y su comparación con un estudio de intervención a corto plazo como el presente, puede presentar ciertas limitaciones a la hora de comparar los resultados.

Aunque sería necesario realizar una intervención a más largo plazo, los resultados del presente estudio parecen reforzar la hipótesis de otros trabajos sobre la idea de que un consumo moderado de bebidas fermentadas de baja graduación alcohólica no va a provocar un aumento del peso corporal, ya que un consumo moderado de cerveza durante un mes no ha modificado el peso, pliegues cutáneos (a excepción del bicipital en los hombres), perímetros, ni el IMC ni el ICC en ningún grupo (tablas I y II).

Conclusión

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, al no haberse observado variaciones ni en el peso corporal, índice de masa corporal, pliegues cutáneos (a excepción del pliegue bicipital en los hombres), perímetros medidos e índice cintura/cadera a lo largo del estudio, se puede deducir que un consumo moderado de cerveza durante un mes no modifica los parámetros ponderales, ni los referentes a la composición corporal, en una población española adulta sana.

Agradecimientos

Los autores de este trabajo quieren expresar su más sincero agradecimiento a los voluntarios que han participado en este estudio, así como a Laura Barrios (CSIC) por su inestimable asesoramiento en el tratamiento estadístico de los datos.

Este estudio ha sido financiado por el Centro de Información Cerveza y Salud, Madrid, España.

Referencias

1. Priola RD, Lieber CS: Energy cost of the metabolism of drugs, including ethanol. *Pharmacology* 1972; 7: 185-96.
2. Kromhout D: Energy and macronutrient intake in lean and obese middle-aged men (the Zutphen study). *Am J Clin Nutr* 1983; 37: 295-9.
3. Lands WE: Alcohol, calories, and appetite. *Vitam Horm* 1998; 54: 31-49.
4. Schutz Y: Role of substrate utilization and thermogenesis on body-weight control with particular reference to alcohol. *Proc Nutr Soc* 2000; 59 (4): 511-7.
5. Suter PM, Hasler E, Vetter W: Effects of alcohol on energy metabolism and body weight regulation: is alcohol a risk factor for obesity? *Nutr Rev* 1997; 55 (5): 157-71.
6. Slattery ML, McDonald A, Bild DE y cols.: Associations of body fat and its distribution with dietary intake, physical activity, alcohol, and smoking in blacks and whites. *Am J Clin Nutr* 1992; 55 (5): 943-9.

7. Tanner JM, Whitehouse RH: Standars for subcutaneous fat in British children. *Br Med J* 1962; 1: 446-50.
8. Lohman TG, Roche AF & Martorell R: eds. Anthropometric Standardization Reference Manual. Human Kinetics Books, Champaign. 1988. Illinois.
9. WHO working group: Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. *Bulletin of the World Health Organization* 1986; 64 (6): 929-41.
10. Kromhout D: Energy and macronutrient intake in lean and obese middle-aged men (the Zutphen study). *Am J Clin Nutr* 1983; 37: 295-9.
11. National Research Council: Diet and health: implication for reducing chronic disease risk. Washington DC: National Academy Press. 1989.
12. Meyer R, Suter PM, Vetter W: Alcohol —risk factor for overweight. *Schweiz Rundsch Med Prax* 1999; 88 (39): 1555-61.
13. Tremblay, S St-Pierre: The hyperphagic effect of a high-fat diet and alcohol intake persists after control for energy density. *Am J Clin Nutr* 1996; 63 (4): 205-12.
14. Foltin RW, Kelly TH, Fischman MW: Ethanol as an energy source in humans: comparison with dextrose-containing beverages. *Appetite* 1993; 20: 95-110.
15. Requejo A, Ortega A: Las diferencias en los hábitos alimentarios y estado nutritivo de un colectivo de personas, en función del tipo de bebida consumido de manera habitual. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Ed. Centro de Información Cerveza y Salud. 1998.
16. Romeo J, Díaz LE, González-Gross M, Wärnberg J, Marcos A: Contribución a la ingesta de macro y micro nutrientes que ejerce un consumo moderado de cerveza. *Nutr Hosp* 2006; 21 (1): 84-91.
17. Han TS, Bijnen FC, Lean ME, Seidell JC: Separate associations of waist and hip circumference with lifestyle factors. *Int J Epidemiol* 1998; 27 (3): 422-30.
18. Dallongeville J, Marecaux N, Ducimetiere P y cols.: Influence of alcohol consumption and various beverages on waist girth and waist-to-hip ratio in a sample of French men and women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22 (12): 1178-83.
19. Machado PA, Sichieri R: Waist-to-hip ratio and dietary factors in adults. *Rev Saude Publica* 2002; 36 (2): 198-204.
20. Cigolini M, Targher G, Bergamo IA y cols.: Moderate alcohol consumption and its relation to visceral fat and plasma androgens in healthy women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996; 20 (3): 206-12.
21. Kaye SA, Folsom AR, Prineas RJ, Potter JD, Gapstur SM: The association of body fat distribution with lifestyle and reproductive factors in a population study of postmenopausal women. *Int J Obes* 1990; 14 (7): 583-91.
22. Keenan NL, Strogatz DS, James SA, Ammerman AS, Rice BL: Distribution and correlates of waist-to-hip ratio in black adults: the Pitt County Study. *Am J Epidemiol* 1992; 135 (6): 678-84.
23. Williamson DF, Forman MR, Binkin NJ, Gentry EM, Remington PL, Trowbridge FL: Alcohol and body weight in United States adults. *Am J Public Health* 1987; 77 (10): 1324-30.
24. Colditz GA, Giovannucci E, Rimm EB y cols.: Alcohol intake in relation to diet and obesity in women and men. *Am J Clin Nutr* 1991; 54 (1): 49-55.
25. Wannamethee SG, Field AE, Colditz GA, Rimm EB: Alcohol intake and 8-year weight gain in women: a prospective study. *Obes Res* 2004; 12 (9): 1386-96.
26. Vadstrup ES, Petersen L, Sorensen TI, Gronbaek M: Waist circumference in relation to history of amount and type of alcohol: results from the Copenhagen City Heart Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27 (2): 238-46.
27. Lukasiewicz E, Mennen LI, Bertrais S y cols.: Alcohol intake in relation to body mass index and waist-to-hip ratio: the importance of type of alcoholic beverage. *Public Health Nutr* 2005; 8 (3): 315-20.
28. Bobak M, Skodova Z, Marmot M: Beer and obesity: a cross-sectional study. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57 (10): 1250-3.

Original

Recommendations from SPNS/GEAM/SENBA/SENPE/AEDN/SEDCA/ GESIDA on nutrition in the HIV-infected patient

R. Polo*, C. Gómez-Candela**, C. Miralles***, J. Locutura, J. Álvarez, F. Barreiro, D. Bellido, E. Câncer, D. Cánoves, P. Domingo, V. Estrada, C. R. Fumaz, M. J. Galindo, T. García-Benayas, C. Iglesias, J. A. Irlles, I. Jiménez-Nacher, F. Lozano, I. Marqués, J. R. Martínez-Álvarez, M. J. Mellado, A. Miján, J. T. Ramos y P. Riobo

*Secretaría del Plan Nacional sobre el Sida. **Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Nuestra Señora de La Candelaria. ***Unidad de VIH. Complejo Hospitalario Xeral de Vigo. España.

Abstract

Objective: to make recommendations on the approach to nutritional problems (malnutrition, cachexia, micronutrient deficiency, obesity, lipodystrophy) affecting HIV-infected patients.

Methods: these recommendations have been agreed upon by a group of experts in the nutrition and care of HIV-infected patients, on behalf of the different groups involved in drafting them. Therefore, the latest advances in pathophysiology, epidemiology, and clinical care presented in studies published in medical journals or at scientific meetings were evaluated.

Results: there is no single method of evaluating nutrition, and different techniques —CT, MRI, and DXA— must be combined. The energy requirements of symptomatic patients increase by 20-30%. There is no evidence to support the increase in protein or fat intake. Micronutrient supplementation is only necessary in special circumstances (vitamin A in children and pregnant woman). Aerobic and resistance exercise is beneficial both for cardiovascular health and for improving lean mass and muscular strength. It is important to follow the rules of food safety at every stage in the chain. Therapeutic intervention in anorexia and cachexia must be tailored, by combining nutritional and pharmacological support (appetite stimulants, anabolic steroids, and, in some cases, testosterone). Artificial nutrition (oral supplementation, enteral or parenteral nutrition) is safe and efficacious, and improves nutritional status and response to therapy. In children, nutritional recommendations must be made early, and are a necessary component of therapy.

Conclusion: appropriate nutritional evaluation and relevant therapeutic action are an essential part of the care of HIV-infected patients.

(Nutr Hosp. 2007;22:229-43)

Key words: Nutrition. HIV. Cachexia.

RECOMENDACIONES DE SPNS/GEAM/SENBA/ SENPE/AEDN/SEDCA/GESIDA SOBRE NUTRICIÓN EN EL PACIENTE CON INFECCIÓN POR VIH

Resumen

Objetivo: realizar recomendaciones sobre el abordaje de los problemas nutricionales (malnutrición, caquexia, déficit de micronutrientes, obesidad, lipodistrofia) presentes en la infección VIH.

Métodos: estas recomendaciones se han consensuado por un grupo de expertos en nutrición y en atención al enfermo VIH, en representación de las distintas sociedades firmantes. Para ello se han revisado los últimos avances fisiopatológicos, epidemiológicos y clínicos recogidos en estudios publicados en revistas médicas o presentados en congresos.

Resultados: no existe un único método de valoración nutricional, debiendo combinarse cuestionarios y técnicas como TAC, RNM y DEXA. Los requerimientos energéticos en enfermos sintomáticos aumentan en un 20-30%. No existe evidencia que respalde el incremento del aporte proteico o graso. La suplementación de micronutrientes sólo es necesaria en circunstancias especiales (Vitamina A en niños y embarazadas). El ejercicio aeróbico de resistencia es beneficioso tanto para la salud cardiovascular como para mejorar la masa magra y la fuerza muscular. Es importante seguir normas de seguridad en toda la cadena alimentaria. La intervención terapéutica en la anorexia y caquexia debe ser individualizada, combinando soporte nutricional y farmacológico (estimulantes del apetito, agentes anabolizantes y testosterona en algún caso). La nutrición artificial (suplementación oral, nutrición enteral o parenteral) es segura y eficaz, mejorando el estado nutricional y la respuesta al tratamiento. En niños, las recomendaciones nutricionales deben ser muy precoces, formando necesariamente parte del tratamiento.

Conclusión: La adecuada valoración nutricional y la pertinente actuación terapéutica son parte esencial de la asistencia del enfermo VIH.

(Nutr Hosp. 2007;22:229-43)

Palabras clave: Nutrición. VIH. Caquexia.

Correspondencia: R. Polo
Secretaría del Plan Nacional sobre el Sida

Recibido: 9-XI-2006.

Aceptado: 20-XI-2006.

Introduction

Knowledge of the nutritional needs of HIV/AIDS-infected patients remains an important issue due to the persistence of situations that require calculation or measurement. HIV/AIDS is still a pandemic and is one of the most important health problems in the world, particularly in Africa and Asia. This is compounded by the growing appearance of different profiles of metabolic or nutritional involvement in infected patients, specifically obesity and lipodystrophy.

This document has been structured according to the interest it may provide for different areas of health care. The authors are experts in their field, their contributions are based on the latest information available, and they follow strict and homogeneous norms in order to facilitate consultation and enable the recommendations to be applied in daily practice. This is followed by a review by all the authors to explain areas that may be less clear, to bring together the information presented in each chapter, and to avoid redundancy.

We have tried to provide a broad view of the nutritional problems of HIV-infected patients and guidelines on early diagnosis and treatment. Thanks to the multidisciplinary effort of the most prestigious experts in the fields of infectious diseases, endocrinology and nutrition, dietetics, pharmacology, and food safety, this text will be of help to Spanish healthcare professionals working directly or indirectly with HIV-infected patients. Thus, any advances in this field can be included in the following editions of this text.

As with any practical approach, we have applied the so-called *levels of evidence* based on the source of the data that support the suggestions, indications, and recommendations in this document (Level A: Comparative and randomized studies. Level B: Cohort studies or case studies. Level C: Descriptive studies or expert opinions). The fact that nutrition has only recently been perceived as important, and that nutritional follow-up is difficult in some centers accounts for the paucity of studies with definitive conclusions on HIV-infected patients. Nevertheless, and owing to the need for treatment to include nutrition, we feel that the time is right to prepare a clear and concise document in which the healthcare professional can identify what is certain and what is uncertain and worthy of further investigation in order to improve the care provided for patients infected by HIV.

Malnutrition

The term malnutrition includes conditions produced both by an excess of nutrients and by a lack of nutrients. However, it is generally used to refer to undernourishment, i.e. disorders stemming from a lack of macronutrients and micronutrients.

Table I

Criteria for a definition of wasting

- Unintentional weight loss of >10% in 12 months
- Unintentional weight loss of >7.5% in 6 months
- Loss of body cell mass of >5% in 6 months
- In men:
 - Body cell mass <35% of total body weight and BMI of < 27 kg/m²
- In women:
 - Body cell mass < 23% of total body weight and BMI < 27 kg/m²
- BMI < 20 kg/m², regardless of sex

HIV infection and weight loss. Pathogenesis and importance of an early diagnosis. Differences between the pre-HAART and HAART eras

During the pre-HAART era, weight loss was usually accompanied by fever, diarrhea, and anorexia. Today, the situation has changed, but there are still many ways both the disease and treatment can contribute to an involuntary weight loss and reduction in energy production—changes in metabolism, increased energy needs, intestinal malabsorption, persistent diarrhea, and the reduced calorie-protein intake as a result of anxiety or depression accompanying HIV infection.

In patients taking HAART, weight loss produced by wasting due to metabolic alterations can be difficult to differentiate from lipodystrophy (especially lipodystrophy) or weight loss produced by low intake.^{9,10}

It is essential to monitor patients' weight, evaluate their nutritional status, and accurately assess the changes in body composition in order to act as early as possible and avoid more serious problems¹¹.

Concepts

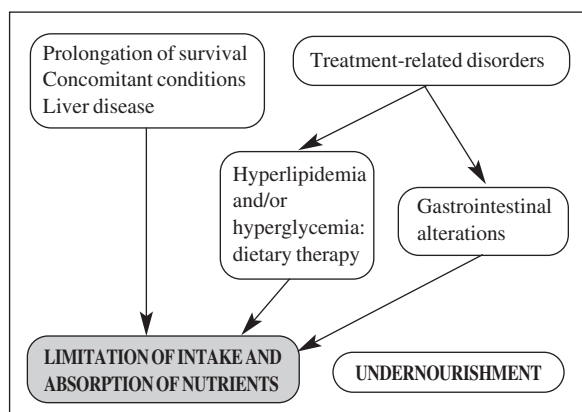
Undernourishment

This is defined as a disorder of body composition characterized by an increase in extracellular water, and a potassium and muscle mass deficit often associated with reduced fatty tissue and hypoproteinemia, which interferes with the normal host response to disease and its treatment.

Calorie-protein undernourishment occurs when daily requirements are not covered by diet. In many cases, it reverts when intake returns and the underlying problem is resolved.

Wasting

The 1987 CDC definition describes wasting as an involuntary weight loss of > 10% of baseline body weight plus chronic fever, weakness, or diarrhea.



Algorithm 1.

According to the current definition of wasting, patients must fulfill at least one of the criteria shown in Table I. This definition stresses that most patients are asymptomatic, and that there are differences between the sexes with regard to fat distribution and muscle mass. It also includes a time profile.^{11,12}

Lipoatrophy

This is the main differential diagnosis of wasting, and is defined as a loss of peripheral fat in the upper or lower limbs, buttocks, or face. The loss is asymmetrical, not necessarily associated with weight loss, and is not related to calorie-protein malnutrition. Wasting and lipoatrophy can be observed simultaneously in the same patient. This aspect is examined exhaustively in the GEAM/PNS recommendations on morphological and metabolic alterations in HIV-infected patients.¹³⁻¹⁵

Pathogenesis of wasting^{11,14,16}

Many factors are involved in the pathogenesis of wasting and it is sometimes difficult to identify the main cause. It is characterized by a disproportionate loss of lean mass due to specific metabolic alterations as part of the body's defense mechanism against a stressful situation. When this state is maintained, it leads to protein depletion, especially in skeletal muscle, and it does not recover with intake, since the whole process is caused by metabolic changes in cells (Algorithm 1). This is somewhat similar to the process in other diseases, including tumors; energy is obtained as an acute inflammatory response in which the tumor necrosis factor and interleukins 1 and 6 intervene. Baseline energy expenditure increases in some AIDS patients from 20% to 60%. There have also been reports of hormonal alterations that exacerbate the situation. These include hypogonadism in men, reduced production of insulin-like growth factor I, the growth hormone messenger in men and women, which

Table II
WHO recommendations on macronutrient requirements in HIV/AIDS-infected patients

General

- Correct nutrition, preferably by a balanced, healthy diet, is essential for the health and survival of all patients, regardless of their HIV status.

Energy

- Energy needs probably increase by 10% to maintain body weight and physical activity in asymptomatic HIV-infected adults, and growth in asymptomatic children.
- During the symptomatic phase of HIV and AIDS, energy needs increase by approximately 20-30% to maintain adult body weight.
- Energy intake must be increased by 50-100% above normal needs in children who present weight loss.

Proteins

There are not sufficient data to support an increase in protein requirements brought about by HIV infection.

Fat

There is no evidence that lipid needs are different as a result of HIV infection.

can lead to resistance and alteration of the energy balance.

Recommendations

- Alterations in weight and body composition are common in HIV-infected patients (Level B).
- It is important to suitably evaluate HIV-infected patients in order to make an early diagnosis of malabsorption (Level B).
- The incidence of wasting has fallen since the introduction of HAART, but it still exists (Level B).
- A differential diagnosis with lipoatrophy must be made (Level A).

Nutritional needs of HIV-infected patients

Macronutrients

Nutritional recommendations vary according to different factors that can act alone but that often combine in the same patient. Specific problems (diabetes, pancreatitis, renal insufficiency, obesity, lipodystrophy, and other metabolic alterations) require specific recommendations.

Energy and proteins

There is no consensus on the baseline energy requirements of HIV-infected patients, although it is known

that these are greater at all stages. There are few data on protein requirements, and an improvement in clinical patterns due to a greater intake of protein has not been proven.

The recommendations of the World Health Association (WHO)²² are shown in Table II.

Micronutrients

The general recommendations of the WHO on the need for micronutrients in HIV-infected patients²² are shown in Table III.

Recommendations

Energy

- During the asymptomatic phase, energy requirements probably increase by 10% in HIV-infected children, adolescents and adults (B). During the symptomatic phases, requirements increase by approximately 20-30% in children, with no weight loss, and in adults and adolescents (Level B).
- In symptomatic children with weight loss, requirements should be increased by 50-100% (Level B).
- HIV-infected pregnant and breastfeeding women should follow the recommendations for adolescents and adults. In addition to these requirements, they must consume the extra energy, proteins, and micronutrients necessary in their condition (Level B).

Proteins

- For all groups, protein requirements will be the same as in non-infected individuals of the same age, sex, and physical state and activity (Level B).

Fat

- There is no evidence that requirements are different due to HIV infection (Level B).

Micronutrients

- There is no evidence that micronutrient supplements reduce morbidity and mortality in infected adults, even in pregnant and breastfeeding women (Level A).
- There is evidence of the benefit of vitamin A supplement in children (Level A).
- During pregnancy and breastfeeding, the daily intake of vitamin A should not surpass RDI recommendations in infected women (Level A).

Table III

WHO recommendations on micronutrient requirements in HIV/AIDS-infected patients

General

- In order to guarantee intake of micronutrients at RDI levels, a healthy diet is encouraged both in infected adults and in infected children.
- Nevertheless, intake of micronutrients at RDI levels may be insufficient to correct nutritional deficiencies.
- There is evidence that some supplements (vitamin A, zinc, and iron) can have adverse consequences in infected populations.
- The safe upper limit of the daily intake of micronutrients in infected patients has yet to be defined.

Children

- Infected children aged 6 to 59 months who live in areas with limited resources should receive the same periodic supplements as non-infected children: vitamin A every 4-6 months (100,000 IU in children aged 6-12 months and 200,000 IU in children aged > 12 months).
- There are no data to guarantee the efficacy of a supplement with other micronutrients.

Pregnant/breastfeeding women

Iron and folic acid. To prevent anemia in the general population, the WHO recommends daily supplements of folic acid and iron (400 µg of folate and 60 mg of iron) for 6 months of pregnancy, and twice-daily supplements to treat severe anemia. There are no data to recommend a different approach in infected women.

Vitamin A. Daily intake of vitamin A should not surpass RDI recommendations.

Supplements with multiple micronutrients

- The most suitable intake of micronutrients is through a correct diet.
- Nevertheless in areas where this is not possible, supplements with multiple micronutrients may be necessary during pregnancy and breastfeeding.

Evaluation of nutritional status in HIV

Very recent studies have observed that severe undernourishment, cachexia, continues to be a serious problem affecting more than 17% of infected patients, of whom more than 70% were receiving HAART²⁷. Cachexia is not only a problem of calorie-protein undernourishment; it also involves an alteration of body composition (BC) with a specific loss of body cell mass (BCM).¹⁵

Methods for evaluating nutritional status

A good marker of nutritional status should bring together the following characteristics: it should not be

affected by non-nutritional factors, it should return to normal values with appropriate nutritional support, and it should be sensitive and specific. It should not be altered in patients who are not undernourished.

Clinical history

The following should be obtained: clinical data, dietary history, social factors (financial, work, etc.),²⁸ and a physical examination with anthropometric data.

Laboratory parameters

These include the measurement of protein levels in plasma (albumin, transthyretine [prealbumin], and transferrin), calculation of nitrogen balance, creatinine-height balance, and measurement of trace elements, vitamins, and electrolytes. Immunological parameters to be measured include the lymphocyte count and delayed hypersensitivity skin tests.

Functional tests

These allow us to evaluate the repercussion of the loss of muscle mass by means of dynamometry, lunar nerve stimulation, and muscle biopsy.

Methods of global evaluation and screening in patients at risk of undernourishment

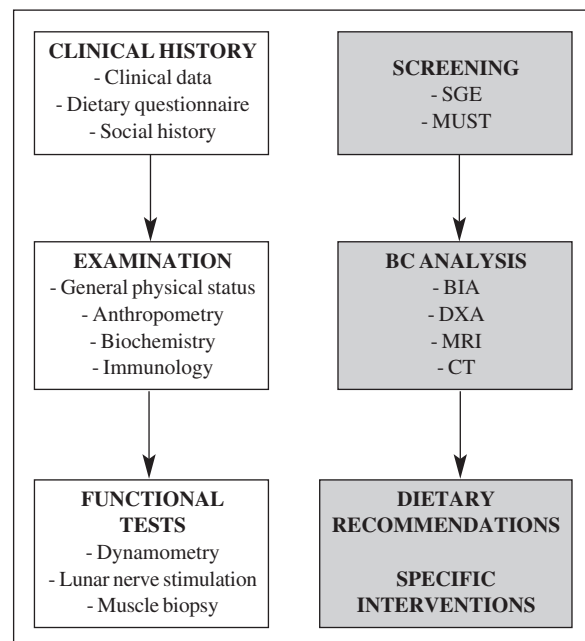
- a) Global subjective evaluation adapted to HIV (GSE).³⁰ This can be used in hospitalized patients or ambulatory patients and divides patients into three groups:
 - A. Well nourished.
 - B. Moderately nourished or at risk of becoming undernourished.
 - C. Severely undernourished.
- b) Other methods to be taken into account:

MUST: this is a method used to screen for the risk of malnutrition, and is currently recommended by the European Society of Parenteral and Enteral Nutrition (ESPEN) as a method of population screening.³¹
- c) Analysis of body composition.

The most widely used methods in habitual clinical practice, due to their application in BC studies, are bioelectric impedance (BIA),³²⁻³⁷ dual X-ray absorptiometry (DXA)³⁸ and techniques for measuring regional fat (CT and MRI).

Recommendations

- HIV-infected patients should have their nutritional status evaluated (Level A).



Algorithm for evaluation of nutritional status.

- It is important to identify patients at greater risk of altered nutritional status who need specific intervention (Level A).
- There is no ideal method for evaluating the nutritional status of HIV-infected patients. The SGE adapted to the HIV population is a simple questionnaire that includes essential parameters of the clinical history and examination, and provides a first diagnosis of the nutritional status (Level B).
- The analysis of BC is fundamental in a complete nutritional evaluation. There is no ideal method for analyzing BC. It should be evaluated using specific techniques, such as DXA, BIA, CT, or MRI (Level C).

Objectives of nutritional therapy

Table IV shows the general and specific objectives of nutritional therapy in HIV-infected patients.³⁹⁻⁴² Now that most patients are taking HAART and have a suppressed viral load, the reduction of cardiovascular risk and monitoring of overweight are the most important objectives. Nutritional objectives should be set on an individual basis. Therefore, without ruling out protocols and clinical practice guides, problems should be prioritized, and the “ideal” objectives set by the physician should be adjusted to the individual patient.

General recommendations

Nutritional intervention and education should form part of the HIV-infected patient’s care package from

Table IV
Objectives of nutritional therapy in HIV-infected patients

General

- Improve quality of life.
- Reduce the incidence and/or delay the onset of HIV-associated complications.
- Reduce the side effects of HAART.

Specific

- Prevent malnutrition, which is very difficult to revert in advanced stages (cachexia).
- Maintain ideal body cell mass and weight for each patient.
- Help control metabolic and morphological disorders caused by HAART and reduce associated cardiovascular risk.
- Improve the immune function associated with HIV infection.
- Minimize the consequences of gastrointestinal disorders caused by opportunistic infections or by HAART itself.

diagnosis and throughout follow-up. There is firm scientific evidence that advice on nutrition, in addition to offering suitable dietary habits, is efficacious in improving the state of health of these patients.³⁹

Training for healthcare professionals, the development of behavioral skills, and the use of protocols and guidelines adapted to these patients can improve the quality of care. The following nutrition strategies should be applied to all HIV-infected patients: 1) integration of nutritional therapy in the patient's care package; 2) early nutritional intervention; 3) systematic nutritional evaluation from diagnosis and at each of the periodic check-ups; 4) tailored diet and adaptation of the diet to the different stages and chronic complications (glucose intolerance, dyslipidemia, hepatic or renal insufficiency, etc.).

It is particularly important to determine the risk of malnutrition in order to set priorities for evaluation and nutritional therapy. The *American Dietetic Association* (ADA) classifies this risk into three levels: high, medium, and low, and recommends that these interventions take place before one week in high-risk patients, and before one month in medium-risk patients. Furthermore, the ADA recommends adapting the visit schedule to the patient's CDC category (at least three visits per year in stage I, three to six visits in stages II and III), and carrying out more frequent monitoring in children.^{39,40}

Recommendations

- Integral health care for HIV-infected patients should include prevention and treatment of the frequent nutritional disorders presented by HIV-infected patients as a consequence of the infection itself, of the associated conditions, or of antiretroviral therapy (Level A).

- Nutritional intervention should be early and periodic. It should be tailored to the HIV stage and to the type and intensity of the disorders mentioned above, and carried out by experts (Level C).

Lifestyles and psychological variables: nutritional advice

Prolonged use of drugs leads to toxicity, which has a proven impact on quality of life,⁴³ with the result that a multidisciplinary approach is essential. Therefore, patients must participate actively in decision-making and in the management and care of their illness.

Therapeutic scenarios and the most frequent clinical situations

In the case of nutritional problems, the main challenge for the clinician is often to differentiate between whether the disorder is organic in nature, or psychological. The key lies in a wide view by the clinician, and visits should include, first, an evaluation of nutritional and emotional aspects and, second, the use of suitably communicative language.

There are two types of situation associated with nutrition in the HIV-infected patient:

1. *Physical symptoms that can have an organic, toxic, or psychological origin:* Tiredness, loss of appetite, dry mouth and throat, nausea, diarrhea/constipation, problems swallowing—if neither an organic nor iatrogenic cause can be determined, the patient should be asked
 1. if there have been any noticeable changes in his/her daily routine.
 2. if any events in particular are worrying him/her.
 3. about his/her state of mind.

Approach: if emotional problems are present or suspected as the origin of these symptoms, the patient must be referred to a psychologist or other qualified professional.

2. *Eating disorders based on a mental disorder:* These are very difficult to detect during a consultation, since the patient has no complaints and tends to hide any problems. Therefore, the clinician should use the physical signs of the disorder as clues. Advantage should be taken of any information on eating habits and health provided by those accompanying the patient.

General clinical approach: the interview is a basic tool given the possibility it offers to collect information and boost the physician-patient relationship. Feedback received during the interview is extremely important,

since it allows teamwork to be continually redirected. Specialized questionnaires make it possible to obtain data on the patient's eating disorder. The ACTA questionnaire⁵² is valid for this purpose.

Communication strategies

The basic aspects of the communication process are as follows:

Priorities. When patients inform their physician. These situations are of particular interest, since they represent the manifestation of what is most worrying for the patient.

Personality variables. A patient's personality characteristics make him/her more or less receptive to advice on nutrition, as well as to adherence and cooperation with their therapy provider.

Lifestyles. When approaching therapy, it is always necessary to consider the patient's lifestyle and concerns, as these can condition his/her behavior.

Recommendations

- It is important to have support material during consultations in order to provide specific information and resources (Level C).
- Non-profit-making organizations (NGO) are yet another element to extend these recommendations (Level C).
- If emotional alterations are observed, the patient must be referred to a clinical psychologist and/or psychiatrist for evaluation and therapy (Level C).

Nutrition and physical exercise in HIV-infected patients

In recent years, different studies have been published on the effect of exercise on the status and progress of HIV-infected patients.⁵⁵⁻⁵⁸ Moderate exercise also helps to maintain the metabolic capacity for synthesizing proteins, by increasing muscle mass, even in patients suffering from the wasting syndrome.⁵⁹

Therapeutic approach to the HIV-infected patient

Table V shows a series of simple norms to be followed.

Any HIV-infected patient deciding to train for and participate in a high-level event, such as a marathon or semi-professional or professional cycling event, should seek the advice of his/her physician, a personal trainer, and an expert in sports nutrition.

Table V

Dietary orientation for exercise in HIV-infected patients

- Calculate the individual calorie intake
- Divide the diet into 5 or 6 meals per day
- At least 60% should be in the form of carbohydrates with a high glycemic index
- Limit carbohydrates with a low glycemic index to <10% of the total
- Proteins must have a high biological value and represent 10-15% of the total calorie intake
- Fats must be limited to a maximum of 30% - vegetable fats are preferred
- Evaluate the addition of enteral nutritional supplements to cover the calorie-protein requirements
- If necessary, supplement with vitamins from groups B, A, and E
- If necessary, supplement with minerals, especially Fe, Zn, and Se
- Strict control of the hydro-electrolytic mechanism
- Strict clinical control

Ergogenic aids

Ergogenic aids are any type of compound, substance, or external aid used to enhance sports performance.

Athletes, particularly in strength sports, use creatine as a means of increasing muscle mass and strength, and although its effects on healthy athletes are controversial, they continue to be used. In a recent study⁶⁸ involving patients on HAART, creatine was administered to a group of 17 patients, and placebo to a group of 16; creatine was observed to significantly improve lean muscle mass compared with placebo. However, in both groups, a similar increase in strength was observed (40%), with no significant differences.

Overloads of branched amino acids and proteins have also been used to increase lean mass. No improvement has been observed after use in comparisons with control groups.

Recommendations

- Aerobic and resistance exercise is beneficial for the cardiovascular health of patients with HIV infection (Level A).
- Aerobic and resistance exercise can improve lean mass and muscular strength in HIV-infected patients on antiretrovirals (Level A).
- There is not sufficient evidence to show the benefit of using ergogenic aids such as creatine in HIV-infected patients on antiretrovirals (Level C).
- In any case, we must recommend moderate and regular aerobic sports, as this can also improve the mental health and quality of life of these patients, and become an important concomitant therapy (Level A).

Dietary recommendations in special situations

Dietary recommendations in special situations should aim to tailor food and meals to individual patient needs, improve and counter the effects brought about by special situations that could lead to malnutrition, optimize nutritional status, and prevent and/or treat possible nutritional deficiencies. We should include these recommendations during pregnancy, vegetarian diets, and recommendations for gastrointestinal alterations—these can be consulted in the complete document at www.msc.es and www.gesida.es

Recommendations

- During pregnancy and breastfeeding, the risk of malnutrition increases due to the increase in energy expenditure. Therefore, specific nutritional recommendations may not be sufficient, and it is necessary to evaluate the indication of nutritional support (Level B).
- Advice on diet should be on an individual basis and adapted to the needs of each patient (Level C).

Norms for food safety

Quality of food and drinks is very important for HIV-infected individuals, especially when they have been inappropriately handled or when water is not suitable for drinking.^{78,79}

Precautions to be taken with food and drinks

The following recommendations should be observed for the handling, preparation, and consumption of food and drinks:

Safety. Only foods that have been hygienically handled and have undergone the necessary checks by the corresponding health authorities should be eaten.

Raw products. Raw or lightly cooked eggs, meats, poultry, fish, or shellfish (including marinated products, anchovies in vinegar, etc.) should not be consumed. The same applies to milk or dairy products that have not been treated industrially.

Eggs and sauces. Patients should not consume unpasteurized sauces or other products made with eggs. Only packed sauces that have undergone heat treatment (mayonnaise, salsa rosa, béarnaise, hollandaise, etc.) should be consumed

Shopping. When shopping for food, patients should pay particular attention to quality, both in the case of fresh products (vegetables, fruit, meat, etc.) and in the case of preserves (tinned food, frozen food, etc.). The characteristics of all foods should be verified.

Storage. Recently purchased foods should be conserved in suitable conditions. Thus, perishables (meat,

poultry, and fish) must be stored in the refrigerator at temperatures below 3 °C, and fruit, vegetables, eggs, and dairy produce at between 5 °C and 7 °C. Frozen foods should be kept at no more than -18 °C.

Thawing. Frozen products (potatoes, croquettes, vegetables, etc.) can be consumed by heating them directly where possible. When this is not possible, they should be thawed for the necessary time by keeping them in the refrigerator until they have thawed.

Preparation. When food is being prepared for cooking or made ready for eating, special attention must be paid to handling. Avoid speaking, sneezing, coughing, or touching the face, nose or hair.

Hand-washing.

Conservation. Those foods to be consumed after cooking and appropriate storage (e.g. in the refrigerator) should be reheated to boiling point in the case of soups and other liquid products, and to 70 °C at the center of other products.

Recommendations

- Immunodepressed patients who receive suitable training and education in food hygiene and handling can benefit from improved health, with reduced incidence of diarrhea and the subsequent improvement in global nutritional status (Level C).
- Training programs in food hygiene and manipulation should include a study of the food chain, from acquisition to preparation and consumption. Special attention should be paid to foods consumed outside the home (Level C).

Pharmacological interactions

HIV and drugs interact in 2 ways. On the one hand, HIV can affect the absorption of some active ingredients and reduce their bioavailability. On the other, some drugs can affect the patient's nutritional status by producing gastrointestinal side effects.⁸⁷ Any approach to this topic should also take into account food interactions, the consumption of drugs of abuse, and the increasingly extended use of the so-called "medicinal plants".^{88,89}

There are four types of interaction:

1. Effect of nutrients on pharmacokinetics. These effects are grouped according to how they affect the processes of release, absorption, distribution, metabolism, and elimination of drugs).
2. Effect of drugs on nutrient kinetics
 - a) Effects on the metabolism⁹¹
 - b) Effects on excretion⁹²
3. Effects of nutritional status on availability
 - a) Gastrointestinal alterations
 - b) Liver alterations^{93,94}
4. Effect of drugs on nutritional status
 - a) Action on gastrointestinal motility

Table VI
Drugs assayed in the treatment of AIDS as wasting disease

- 1. Orexins or appetite stimulants**
 - Megestrol acetate; Dronabinol.
- 2. Anabolic steroids**
 - Testosterone enanthate; Oxandrolone; Nandrolone; Oxymetholone; Recombinant GH; rGH + IGF-1.
- 3. Cytokine production modulators**
 - Thalidomide; Pentoxifylline; Omega 3 fatty acids; NSAIDs (Ketotifen).

Recommendations

- The only antiretroviral whose pharmacokinetics is affected by food is didanosine (Level A).
- Knowledge and efficacious management of drug-food interactions can influence the success of treatment and slow down the progress of the disease (Level C).
- The consumption of some herbal preparations can compromise the efficacy of antiretrovirals that are metabolized by CYP450 3A4 (Level A).
- Calcium and phosphorus determinations should be made in patients being treated with tenofovir due to the possibility of developing hypophosphatemia (Level B).

Pharmacological therapy

Several pharmacological treatments have been tried to improve the clinical signs of cachexia, i.e., anorexia and extreme weight loss.

The drugs studied can be classified according to their mechanism of action as orexins or appetite stimulants, anabolic steroids, and cytokine production modulators (see Table VI).

*Appetite stimulants*⁹⁵⁻¹⁰¹

The best-known and used drugs in HIV patients are megestrol acetate and dronabinol. Both have CNS, gastrointestinal and cardiovascular side effects. Despite this, the results obtained in patients suffering from anorexia have been satisfactory.

Anabolic steroids

Testosterone has been shown to increase body lean mass and improve quality of life.^{103,104} In addition, an improvement in insulin sensitivity has been observed.

The use of other synthetic anabolic agents such as oxandrolone, nandrolone, and oxymetholone has also

been associated with an increase in weight and lean mass in patients with HIV-associated cachexia in placebo-controlled studies both in isolation and associated with resistance exercise.¹⁰⁴ Nevertheless, despite being associated with increases in lean mass, testosterone or its derivatives at supraphysiological doses in eugonadal males can reduce HDL levels and cause liver dysfunction and hypogonadism; therefore, it should be used with caution.

More recent studies do not show any advantage with nandrolone in patients with moderate or severe weight loss compared with growth hormone (GH).¹⁰⁵

Recombinant GH in isolation has improved nitrogen balance and increased lean mass and body weight in HIV-infected patients with cachexia. Furthermore, it seems to provide certain advantages with regard to improved functional capacity and quality of life compared with testosterone and other anabolic steroids.¹⁰⁴

Multivitamins

The administration of vitamin and oligoelement supplements continues to be controversial, there being no accurate definition of ideal recommendations for this type of patient.¹⁰⁸ If a micronutrient deficiency is detected, we recommend replacing the drug following the same lines as in any other situation of deficiency.

Recommendations

- HIV-infected patients with anorexia-cachexia syndrome must be treated. Therapy should be tailored and should include therapy specific to HIV infection and opportunistic infections, identification and treatment of the causes of malnutrition, and provision of appropriate pharmacological and nutritional support (Level A).
- If AIDS-related cachexia is accompanied by anorexia, appetite stimulants should be used. Hypogonadism in males should be treated with testosterone (Level A).
- Anabolic agents and resistance training can be used to improve weight and body composition on an individual basis (B).

Artificial nutrition

Artificial nutrition is indicated in all undernourished patients or in patients at risk of undernourishment who cannot, or do not want to eat by mouth.

The following patients are eligible for oral supplementation (OS)^{112,113} and enteral nutrition (EN):

- patients who maintain a sufficient digestive functional capacity with scarce oral intake (< 1000 kcal and 30 g of proteins).

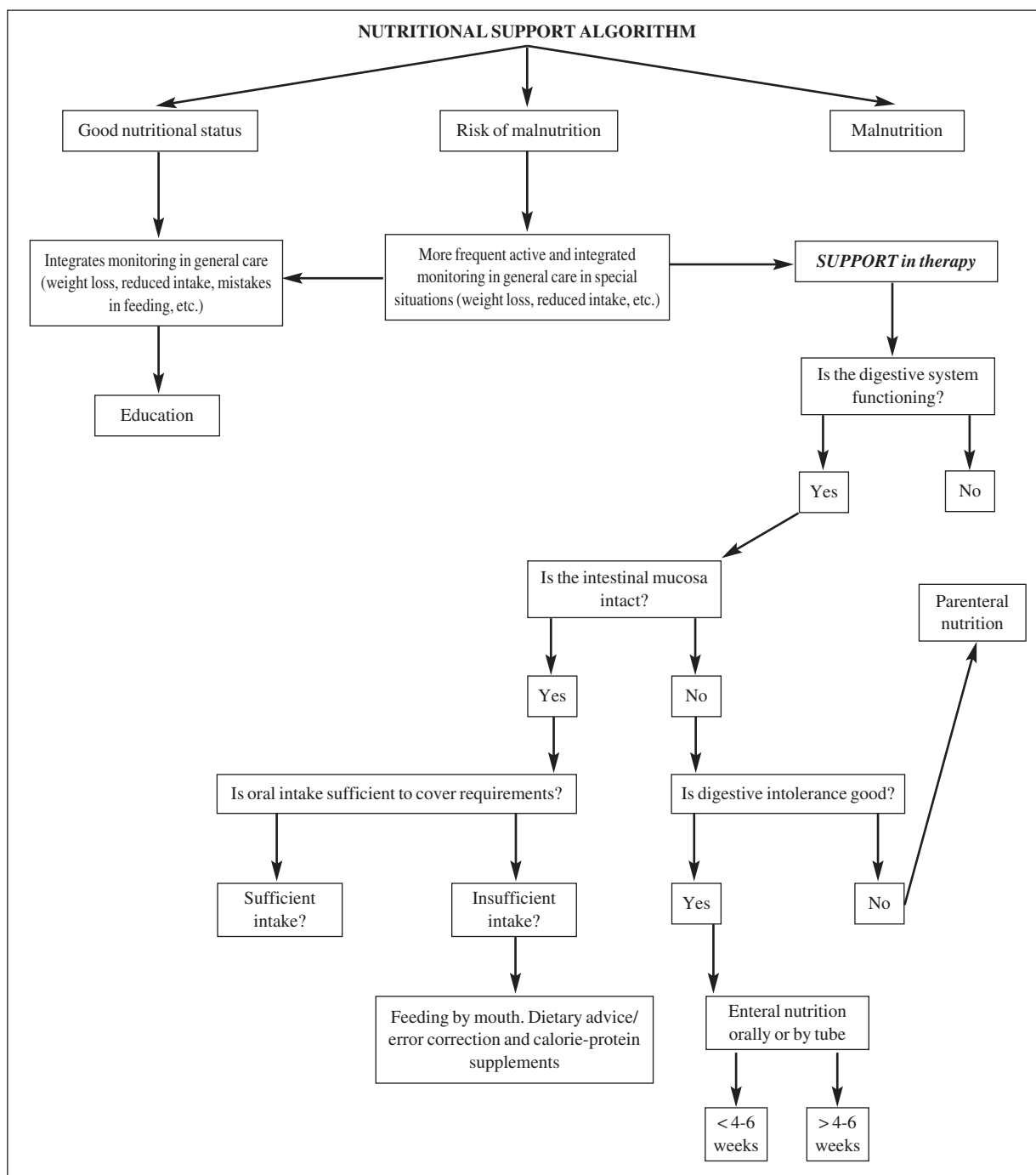


Fig. 1.—Nutritional support algorithm.

- patients who present processes such as dysphagia (motor or functional) and who have a risk of malnutrition or already present frank malnutrition.
- patients who present malabsorption-maldigestion and who have a risk of malnutrition or already present frank malnutrition.
- patients with poor adherence to antiretroviral therapy.
- patients with opportunistic infections or tumors.

Patients for whom EN is contraindicated or for whom it does not cover 100% of their needs are eligible for parenteral nutrition (PN).

Oral supplementation is indicated when natural food is sufficient to cover the body's needs and the patient has a functioning intestine. The different formulas of OS can prove effective to increase the total supply of energy and micronutrients in these patients. *Enteral*

nutrition. The indications would be insurmountable anorexia, severe malnutrition, motor or functional odynophagia and/or dysphagia, tumors, neurological alterations, enteropathy, pancreatitis, side effects of radiotherapy and chemotherapy, and low-flow fistulas. The access route depends on the patient's clinical situation and the expected duration of the intervention. The oral route is indicated in patients who adhere to therapy, do not have dysphagia, and who accept the product. The nasogastric route is for patients with motor or functional dysphagia, or undernourished patients who require extra amounts and cannot ingest them orally. In some cases, it may be necessary to use a nasenteric tube or an ostomy.

There is no consensus on the best enteral formula for HIV-infected patients.¹¹⁴⁻¹¹⁶ The most important factor is that the choice of enteral formula in this group cater for the patient's clinical situation at all times, taking into account the degree of catabolism, requirements, digestive function, concomitant digestive disorders, etc., as for the healthy population. Enteral nutrition can be administered in boluses, with gravity systems, or with infusion pumps (this system is obligatory in patients with jejunostomy).

Parenteral nutrition is indicated in patients for whom EN is contraindicated, but who need nutritional support; or in patients with opportunistic infections which lead to severe diarrhea and malabsorption; and in patients who cover at least 75% of their requirements with EN. Patients with HIV infection have a high degree of catabolism with very high calorie-protein needs. Furthermore, special care must be taken with some elements such as zinc and selenium. Therefore, for the PN formula, the following are recommended.¹¹⁷⁻¹¹⁸

- Calorie intake: 35 kcal/kg/day; l.
- Nitrogen intake: between 1.2 – 1.75 g/kg/day of protein.
- 60%-70% of the non-protein calorie intake must be carbohydrates (glucose). No more than 5 mg/kg/min of glucose.
- 30%-40% of the non-protein calorie intake must be lipids. No more than 0.11 g/kg/h.
- Iron, mineral, vitamins, oligoelements and water supplements will be administered on an individual basis.

*Home artificial nutrition.*¹¹⁹ This allows patients the benefits of AN at home with the aim of optimizing their quality of life. It requires the collaboration and training of patients and their families in home artificial nutrition techniques and a minimum availability of human and material resources.

Recommendations

- OS with artificial formulas optimizes the response to therapy and improves patients' nutritional status (B).

Table VII

*Dietary recommendations in HIV-infected-children*¹²⁸⁻¹²⁹

- Limit total fat intake: 1-3 years, 30-40% of calorie intake; 4-18 years, 20-35%.
- Saturated fat intake should be as low as possible and must not exceed 10% of calorie intake.
- Cholesterol must be present in as small a quantity as possible and must not exceed 300 mg/day.
- Reduce the consumption of sodium and trans-fatty acids.
- Reinforce the intake of fruit and vegetables, calcium, potassium, fiber, magnesium, and vitamins D and E.
- Fiber intake should be 14 g per 1,000 calories, which means 19-38 g per day depending on age and sex.
- During puberty, the intake of iron, calcium, and folic acid should be closely monitored.
- Added sugars should not exceed 10% of total calories.
- Daily potassium intake is 3,000 mg for children aged 1-3 years up to 4,700 mg in children aged 14-18 years.
- The recommended intake of sodium should be below 2,300 mg: 1,000 mg for children aged 1-3 years, 1,500 mg for children aged 4-13 years, and 2,300 mg for children aged 14-18 years.
- Recommended calcium intake: 3 daily portions of dairy produce throughout childhood (1-3 years: 600 mg/day, 4-8 years: 800 mg/day) and 4 portions during adolescence (9-13 years: 1,300 mg/day, 14-18 years: 1,500 mg/days).
- Avoid excess "competing drinks", i.e. sweet fizzy drinks, and snacks.
- Administration of multivitamin supplements may be indicated, especially vitamin A.

- Oral EN via tube or ostomy is safe and efficient since it improves nutritional status with a gain in weight, lean mass and fatty mass, provides functional benefits (immune system and quality of life), and the different formulas are well tolerated. There is no evidence that immunomodulatory formulas offer additional advantages (B).
- The choice of enteral formula in HIV-infected patients must take into account the patient's clinical situation at all times, given the degree of catabolism, requirements, digestive function, concomitant metabolic disorders, etc., as with the healthy population (C).
- Nutritional support with PN in HIV-infected patients must take into account the same factors as for other groups (C).

Nutrition in HIV-infected children

Nutritional risk situations in HIV-infected children

The introduction of HAART during the early months of life means that it is unusual to find under-

nourished children. Children with a stable disease may suffer from subclinical undernourishment (suboptimal intake of essential nutrients), especially during puberty. The coexistence of lipodystrophy, dyslipidemia, insulin resistance, and inadequate bone mineralization complicates diet planning. Paradoxically, overweight is increasingly common, due to the excessive intake of calories and fats, which mirrors the situation in healthy children of the same age.

Nutritional evaluation

This should include a clinical history, dietary history, physical examination, anthropometry, body composition markers, and complementary examinations (bone age, DXA of the spinal column).

Consequences of a change in habits and diet among children in our area

Our objective is to promote from an early age a healthy lifestyle with physical activity and a healthy diet. In developed countries there has been a change in the consumption of food in the population aged < 18 years. This involves sweet fizzy drinks, non-citric fruit nectars, pizzas, salted snacks, semi-skimmed milk, and a reduction of as much as 36% in whole milk, bread, fruit and vegetables. The current situation of children is further complicated by sedentary habits, and the danger of obesity and osteoporosis.^{121,122}

Nutritional intervention

This is the set of measures necessary to achieve an optimal nutritional situation, by avoiding metabolic and cardiovascular risks.

1. *Efficacious HAART.* Associated with an improved nutritional status. The first intervention should be an efficacious therapeutic regimen.¹²³

2. *Carefully selected HAART.* There is no ideal regimen; therapy should be initiated when strictly necessary and less toxic NRTIs should be combined with NNRTIs or PIs with a better metabolic profile.¹²⁴

3. *Diet.* Recommendations on energy requirements should take age into account and will be modified according to physical activity (sedentary, active, or sporting)^{121,125} (table VII). The most important nutritional problem for infected children today is the increase in lipids and the risk of osteopenia.^{123,126}

4. *Dietary supplements.* Vitamins are indicated in risk situations—the first year of life (A and D), and in isolated cases, e.g. convalescence from severe infections, and occasionally in adolescents. Bisphosphonates in proven osteoporosis or pathological fractures could be indicated in children.

5. *Lifestyle changes.* Physical exercise reduces blood lipid levels, evens heart rate, reduces the frequency of AHT, and improves bone mineralization. These benefits are more obvious in pre-adolescence.

6. *Other treatments.* At present, statins and fibrates are only indicated in selected adolescent cases.

Recommendations

- Nutritional recommendations in HIV-infected children should be early and form part of integral therapy (Level A).
- Recommendations on energy intake in infected children should be made taking into account age and sex, although a dynamic calculation will also be made and modified according to the degree of physical activity (Level B).
- Supplementation with multivitamins and minerals can be occasionally recommended, especially if diet is deficient and during periods of risk: first year of life, convalescence, and adolescence (Level B).
- Vitamin D and calcium supplements have not been shown to be efficacious in children with osteopenia; the best approach is to ensure that the recommendations for intake of dairy products are being observed (Level B and C).
- Physical exercise in children reduces blood lipid levels, evens heart rate, reduces the frequency of AHT, and improves bone mineralization. These benefits are very obvious in pre-adolescence (Level B).
- At present, there are no indications for pediatric administration of drugs that modify blood lipids and insulin resistance, such as the statins and fibrates used in adults. These are only authorized in selected adolescent cases (Level B).

References

1. Shevitz AH, Knox TA: Nutrition in the era of highly active anti-retroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1769-1775.
2. Kathleen Mahan L, Escott-Stump S: Nutrición y Dietoterapia de Krause. Ed. McGraw-Hill Interamericana Editores. 11ª Edición, México 2003.
3. Polo R, Galindo MJ, Martínez E et al.: GEAM/SPNS recommendations for managing metabolic and morphologic alterations in patients with HIV infection. *Nutrition and Metabolic Disorders in HIV Infections* Apr-Jun 2005; 3(3): 467-73.
4. Gil Hernández A: Tratado de Nutrición. Acción Medica ED. Madrid. 2005.
5. R Polo: Manual de Nutrición y Sida. Ed Rosa Polo. Graficas Nilo. Madrid 2002.
6. National Academy of Sciences, Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. National Academy Press, September 2002.
7. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases; report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation; WHO Technical Report Series 916, WHO Geneva 2003
8. Sobre alimentación y atención nutricional en hospitales. Resolución del Comité de Ministros del Consejo de Europa de 12 de noviembre de 2003. <https://wcm.coe.int/rsi/CM/index.jsp>

9. Mulligan K, Tai VW, Schambelan M: Cross sectional and longitudinal evaluation of body composition in men with HIV infection. *J Acquired Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997b; 15: 43-48.
10. Wanke CA, Silva M, Knox TA et al.: Weight loss and wasting remain common complications in individuals infected with human immunodeficiency virus in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 803-805.
11. Polsky B, Kotler D, Stenihart C: HIV associated wasting in the HAART era: guidelines for assessment, diagnosis and treatment. *AIDS patients Care STDs* 2001; 15: 411-423.
12. Kotler DP, Tierney A R, Wang J, Pierson R: Magnitude of body-cell-mass depletion and the timing of death from wasting in AIDS. *Am J Clin Nutr* 1989; 50: 444-447.
13. Polo R, Galindo MJ, Martínez E, Álvarez J et al.: Recomendaciones de GEAM/SPNS sobre el manejo de las alteraciones metabólicas y morfológicas en el paciente con infección por VIH. 2005.
14. Wanke C: Pathogenesis and consequences of HIV associated wasting. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004; 37 (Supl. 5): S277-S279.
15. Kotler D: Challenges to diagnosis of HIV-associated wasting. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004; 37 (Supl. 5): S280-S283.
16. Martínez Valls JF, Mesejo A, Gimeno V: Principios generales. En: Manual básico de nutrición clínica y dietética. Coordinador Mesejo Arizmendi A. Editorial Generalitat Valenciana. 2000.
17. Food and Nutrition Board. Recommended Dietary Allowances. 10th edition. Washington, Dc: National Academy Press; 1989.
18. Association of Nutrition Services Agencies (ANSA). Nutrition Guidelines for Agencies providing food to people living with HIV disease. 2nd ed. Washington, DC, 2002. www.aidsnutrition.org (acceso noviembre 2005).
19. British Columbia Centre for excellence in HIV/AIDS. Therapeutic Guidelines for HIV/AIDS and related conditions. Section 9:2. December 2001.
20. New York state department of Health. Criteria for the medical care of adults with HIV. New York, NY: New York state department of Health; 2001.
21. The American Dietetic Association: Nutrition Management of HIV infection and AIDS. En: Goot SA et al., eds. American Manual of Clinical Dietetics, 5th ed. Chicago, Ill. section 5:388; 1996.
22. Nutrient requirements for people living with HIV/AIDS: report of a technical consultation. World Health Organization; Geneva, Switzerland. 2003. http://www.who.int/nut/documents/hiv_aids_nut_require.pdf (Access November 2005).
23. HIV/AIDS: A Guide por Nutritional Care and Support, 2nd ed. Food and Nutrition Technical Assistance Project, Academy for Educational Development, Washington DC, 2004. http://www.fantaproject.org/downloads/pdfs/HIV_nut_reqs_2004.pdf y http://www.fantaproject.org/downloads/pdfs/HIVAIDS_Guide02.pdf (Access November 2005).
24. Lau N, Kotler DP: Acquired Immunodeficiency Syndrome and Parenteral Nutrition. In: Parenteral Nutrition (JL Rombeau, RH Rolandelli eds). WB Saunders; Philadelphia, PA. 2001.
25. Irlam JH, Visser ME, Rollins N et al.: Micronutrient supplementation in children and adults with HIV infection (review). The Cochrane database of systematic Reviews 2005, Issue 4. Art. No.: CD003650.pub2. DOI: 10.1002/14651858.CD003650.pub2. Version online 19 October 2005.
26. National Academy of Sciences–Food and Nutrition Board. <http://www.nas.edu>.
27. Campa A, Yang Z, Lai S et al.: HIV-related wasting in HIV-infected drug users in the era of HAART. *CID* 2005; 41: 1179-85.
28. Newton JM, Halsted CH: Clinical and functional assessment of adults. In: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC (eds). Modern nutrition in health and disease. Baltimore: Williams & Wilkins, 9th edition, 1999, pp. 895-902.
29. Marianne AB, van der Sande MD, MPH PhD, * Maarten F, Schim van der Loeff MD MSc PhD, Akum A, Aveika B et al.: Body Mass Index at Time of HIV Diagnosis. A Strong and Independent Predictor of Survival *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004; 37(2): 1288-94.
30. Detsky AS, McLaghlin JR, Baker JP, Johnston N, Whittaker S, Mendelson RA et al.: What is subjective global assessment of nutritional status? *JPEN* 1987; 11: 8-13.
31. Stratton J, Longmore D, Elia M: Concurrent validity of a newly developed malnutrition universal screening tool (MUST). *Clin Nutr* 2003; 22 (Supl. 1): S34.
32. Kotler DP, Burastero S, Wang J, Pierson Jr RN: Prediction of body cell mass, fat-free mass, and total body water with bioelectrical impedance analysis: effects of race, sex, and disease. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 489S-97S.
33. Corcoran C, Anderson EJ, Burrows B et al.: Comparison of total body potassium with other techniques for measuring lean body mass in men and women with AIDS wasting. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1053-8.
34. Ward L, Cornish BH, Paton NI, Thomas BJ: Multiple frequency bioelectrical impedance analysis: a cross-validation study of the inductor circuit and Cole models. *Physiol Meas* 1999; 20: 333-47.
35. Earthman CP, Matthie JR, Reid PM, Harper IT, Ravussin E, Howell WH: A comparison of bioimpedance methods for detection of body cell mass change in HIV infection. *J Appl Physiol* 2000; 88: 944-56.
36. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo A et al.: Bioelectrical Impedance analysis-part II: utilization in clinical practice. *Clin Nutr* 2004; 23: 1430-1453.
37. Schwenk A, Beisenherz A, Römer K, Kremer G, Salzberger B, and Elia M: Phase angle from bioelectrical impedance analysis remains an independent predictive marker in HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral treatment. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 496-501.
38. Plank LD: Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2005, 8: 305-309.
39. Nerad J, Romeyn M, Silverman E, Allen-Reid J, Dieterich D, Merchant J et al: General nutrition management in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2003; 36 (Supl. 2): S52-S61.
40. Position of the American Dietetic Association and Dietitians of Canada: Nutrition intervention in the care of persons with human immunodeficiency virus infection. *J Am Diet Assoc* 2004; 104: 1425-1441.
41. McNally L: AIDS and HIV infection. In: Scott-Stump S, ed. Nutrition and diagnosis related care. 5th Edition. Lippincott, Baltimore, 2002; pp. 614-617. ISBN 0-7817-3760-5.
42. Miralles C: Nutritional management of the HIV patient. *Nutr Metabol Dis HIV Infect* 2005; 4: 779-793.
43. Johnson MO, Stallworth T, Neilands TB: The drugs or the disease? Causal attributions of symptoms held by HIV-positive adults on HAART. *AIDS Behav* 2003; 7 (2): 109-17.
44. Nieuwkerk PT, Gisolf EH, Colebunders R, Wu AW, Danner SA, Sprangers MA: Quality of life in asymptomatic and symptomatic HIV infected patients in a trial of ritonavir/saquinavir therapy. *AIDS* 2000; 14 (2): 181-87.
45. Manheimer SB, Matts J, Telzak E, Chesney M, Child C, Wu AW et al.: Quality of life in HIV-infected individuals receiving antiretroviral therapy is related to adherence. *AIDS Care* 2005; 17 (1): 10-22.
46. Knox TA, Zafonte-Sanders M, Fields-Gardner C, Moen K, Johansen D, Paton N: Assessment of nutritional status, body composition, and human immunodeficiency virus-associated morphologic changes. *Clin Infect Dis* 2003; 36 (Supl. 2): S63-8.
47. Tromble-Hoke SM, Langkamp-Henken B, Reid K, Hoffinger R, Uphold CR: Severe stress events and use of stress-management behaviors are associated with nutrition-related parameters in men with HIV-AIDS. *J Am Diet Assoc* 2005; 105 (10): 1541-8.
48. Corless IB, Nicholas PK, McGibbon CA, Wilson C. Weight change, body image, and quality of life in HIV disease: a pilot study. *Appl Nurs Res* 2004; 17 (4): 292-6.
49. Collins, Wagner y Walmsley: Psychosocial impact of the lipodystrophy syndrome in HIV infection. *AIDS Read* 2000; 10 (9): 546-50.
50. Burgoyne R, Collins E, Wagner C, Abbey S, Halman M, Nur M, Walmsley S: The relationship between lipodystrophy-associated body changes and measures of quality of life and mental

- health for HIV-positive adults. *Qual Life Res* 2005; 14 (4): 981-90.
51. Granell V, Cánoves L, Ortega E: Importancia del consejo nutricional en pacientes VIH, SEISIDA 2003 Abs. Vol. 14 núm 5, p. 188. SIN: 1130-1597.
 52. Beato Fernández L, Rodríguez Cano T: El cuestionario de actitudes frente al cambio en los trastornos de la conducta alimentaria (ACTA). Desarrollo y propiedades psicométricas. *Actas españolas de psiquiatría* 2003; 31 (3): 111-19.
 53. Nassiss GP, Papantakou K, Skenderi K, Triandafilopoulou M, Kavouras SA, Yannakoulia M, Chrousos GP, Sidossis LS: Aerobic exercise training improves insulin sensitivity without changes in body weight, body fat, adiponectin, and inflammatory markers in overweight and obese girls. *Metabolism* 2005 Nov; 54 (11): 1472-9.
 54. Ring C, Carroll D, Hoving J, Ormerod J, Harrison LK, Drayson M. Effects of competition, exercise, and mental stress on secretory immunity. *J Sports Sci* 2005 May; 23 (5): 501-8.
 55. Nixon S, O'Brien K, Glazier RH, Tynan AM: Aerobic exercise interventions for adults living with HIV/AIDS The Cochrane Database of Systematic Reviews. The Cochrane Library, Copyright 2005, The Cochrane Collaboration. Volume (3), 2005.
 56. O'Brien K, Nixon S, Glazier RH, Tynan, AM: Progressive resistive exercise interventions for adults living with HIV/AIDS. The Cochrane Library, 2005, (3), Oxford.
 57. Perna FM, LaPerriere A, Klimas N, Ironson G, Perry A, Pavone J, Goldstein A, Majors P, Makemson D, Talutto C, Schneiderman N, Fletcher MA, Meijer OG, Koppes L: Cardiopulmonary and CD4 cell changes in response to exercise training in early symptomatic HIV infection. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 1999 Jul; 31 (7): 973-9.
 58. Mustafa T, Sy FS, Macera CA, Thompson SJ, Jackson KL, Selassie A, Dean LL: Association between exercise and HIV disease progression in a cohort of homosexual men. *Annals of Epidemiology* 199 Feb; 9 (2): 127-31.
 59. Roubenoff R, Abad LW, Lundgren N: Effect of acquired immune deficiency syndrome wasting on the protein metabolic response to acute exercise. *Metabolism: Clinical & Experimental* 2001 Mar; 50 (3): 288-92.
 60. Birk TJ, MacArthur RD, Lipton LM, Levine SD: Aerobic exercise training fails to lower hypertriglyceridemia levels in persons with advanced HIV-1 infection. *Journal of the Association of Nurses in AIDS Care* 2002 Nov-Dec; 13 (6): 20-4.
 61. Domingo P, Sambeat MA, Perez A, Ordonez J, Rodriguez J, Vazquez G: Fat distribution and metabolic abnormalities in HIV-infected patients on first combination antiretroviral therapy including stavudine or zidovudine: role of physical activity as a protective factor. *Antivir Ther* 2003 Jun; 8 (3): 223-31.
 62. Ware LJ, Wootton SA, Morlese JM, Gazzard BG, Jackson AA: The paradox of improved antiretroviral therapy in HIV: potential for nutritional modulation? *Proc Nutr Soc* 2002 Feb; 61 (1): 131-6.
 63. Shephard RJ: Exercise, immune function and HIV infection. *J Sports Med Phys Fitness* 1998 Jun; 38 (2): 101-10.
 64. Terry L, Sprinz E, Ribeiro JP: Moderate and high intensity exercise training in HIV-1 seropositive individuals: a randomized trial. *International Journal of Sports Medicine* 1999 Feb; 20 (2): 142-6.
 65. LaPerriere A, Klimas N, Fletcher MA, Perry A, Ironson G, Perna F, Schneiderman N: Change in CD4+ cell enumeration following aerobic exercise training in HIV-1 disease: possible mechanisms and practical applications. *International Journal of Sports Medicine* 1997 Mar; 18 (Supl. 1): S56-61.
 66. Bopp CM, Phillips KD, Fulk LJ, Dudgeon WD, Sowell R, Hand GA: Physical activity and immunity in HIV-infected individuals. *AIDS Care* 2004 Apr; 16 (3): 387-93.
 67. Ciccolo J.T, Jowers E.M, Bartholomew J.B. The benefits of exercise training for quality of life in HIV/AIDS in the post-HAART era. *Sports medicine* 2004; 34(8): 487-499.
 68. Sakkas GK et al.: Creatine supplementation fails to augment the benefits derived from resistance exercise training in patients with HIV infection. *Antiviral Therapy* 2005; 10: L6.
 69. Nutrición y VIH/SIDA. Informe de la Secretaría. Organización Mundial de la Salud, EB116/12, 2005.
 70. HIV/AIDS: A guide for nutritional care and support 2nd Edition. Food and nutritional technical assistance. Washington DC, 2004.
 71. Requerimientos nutricionales durante la gestación y la lactancia. Tratado de Nutrición, Tomo III, Óscar Constantino Thompson Chagoyán, Ángel Gil Hernández. Ed. Acción Médica. 1ª Ed., 2005.
 72. Fernández Ballart J, Arijá Val V: Dieta durante el embarazo y la lactancia. Nutrición y dietética clínica. Ed. Doyma. 1st Ed., 2000.
 73. Cervera P, Clapes J, Rigolfas R: McGraw-Hill-Interamericana. Alimentación y dietoterapia. 4th Ed., 2004.
 74. Pibernat i Tornabell A: Reflujo gastroesofágico. Nutrición y dietética clínica, Ed. Doyma, 2000.
 75. Saló i Solà ME: Dieta astringente. Nutrición y dietética clínica, Ed. Doyma, 1st Ed. 2000.
 76. Johnston S: Consejos dietéticos, suplementos nutricionales orales y vitamínicos en la infección por VIH. In: Manual de Nutrición y SIDA. Edit Rosa Polo Rodríguez. 3rd Ed. Madrid, 2002.
 77. Guelar A, Johnston S, Colon J, Gimenez A, Buira E: Manual de Nutrición y SIDA. Departamento de Sanidad y Seguridad Social. Generalitat de Catalunya, 2004.
 78. Hayes C, Elliot E, Krales E, Downer G: Food and water safety for persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2003 Apr 1; 36 (Supl. 2): S106-9.
 79. Hayes C, Elliot E, Krales E, and Downer G: Food and Water Safety for Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Clinical Infectious Diseases* 2003; 36: S106-S109.
 80. Tinnerello D: HIV and nutrition. *Body Posit* 1998 Sep; 11 (9): 24-7, 30-1.
 81. Hanna L: Food safety guidelines. *BETA* 1997 Jun; 27, 58.
 82. Hoffman EW, Bergmann V, Shultz JA, Kendall P, Medeiros LC, Hillers VN: Application of a five-step message development model for food safety education materials targeting people with HIV/AIDS. *J Am Diet Assoc* 2005 Oct; 105 (10): 1597-604.
 83. Highleyman L: Tratamiento de las náuseas, vómitos y diarreas. *BETA* 2002 spring; 15 (2): 29-39.
 84. Bowers M: Diarrhea. *BETA* 1997 Jun; 28-32, 58.
 85. Celum CL, Chaisson RE, Rutherford GW, Barnhart JL, Echenberg DF: Incidence of salmonellosis in patients with AIDS. *J Infect Dis* 1987; 156: 998-1002.
 86. Mead PS, Slutsker L, Dietz V et al: Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 607-25.
 87. D'Arcy PF: Nutrient-drug interactions. *Adverse Drug React Toxicol Rev* 1995; 14: 233-54.
 88. Orden SCO/190/2004, de 28 de enero por la que se establece la lista de plantas cuya venta al público queda prohibida o restringida por razón de su toxicidad. (BOE núm 32 de 6 de febrero 2004).
 89. Interacciones hierbas-medicamentos. <http://www.healthandage.com/html/res/com/indexC.html>
 90. Singh BN: Effects of food on clinical pharmacokinetics 1999; 37: 213-255.
 91. Riddler S, Smith E, Cole S et al.: Impact of HIV infection and HAART on serum lipids in men. *JAMA* 2003; 289: 2978-82.
 92. Gallant J, Staszewski S, Pozniak A, de Jesús E et al.: Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral naive patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2004; 292: 191-201.
 93. Wyles D, Gerber J: Antiretroviral drug pharmacokinetics in hepatitis with hepatic dysfunction. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 174-81.
 94. Drug-drug interactions between HAART, medications used in substance use treatment, and recreational drugs, 2005. <http://www.hiv.guidelines.org>
 95. Von Roenn JH, Armstrong D, Kotler DP: Megestrol acetate in patients with AIDS-related cachexia. *Ann Intern Med* 1994; 121 (6): 393-399.
 96. Batterham MJ, Garsia R: A comparison of megestrol acetate, nandrolone decanoate and dietary counselling for HIV associated weight loss. *Intern J Andr* 2001; august 24 (4): 232-240.
 97. Berenstein EG, Ortiz Z: Megestrol acetate for the treatment of anorexia-cachexia syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; Apr 18.

98. Beal JE, Olson R, Laubenstein L, Morales JP, Bellman P, Yangco B, Lefkowitz L, Plasse TF, Shepard KV: Dronabinol as a treatment for anorexia associated with weight loss in patients with AIDS. *J Pain Symptom Manag* 1995; 10: 89-97.
99. Impone JG, Wright DJ, Li N, Egorin MJ, Enama ME, Mayers J, Galetto G, and the DATRI 004 Study Group: The safety and pharmacokinetics of single-agent and combination therapy with megestrol acetate and dronabinol for the treatment of HIV wasting syndrome. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1997; 13: 305-15.
100. Di Franco MJ, Shepard HW, Hunter DJ: The lack of association of marihuana and other recreational drugs with progression to AIDS in San Francisco Men. *Ann Epidemiol* 1996; 6: 283-89.
101. Whitfield RM, Bechtel LM, Starich GH: The impact of ethanol and Marinol/marijuana usage HIV+ AIDS patients undergoing azidothymidine, azidothymidine/dideoxycytine, or dideoxynosine therapy. *Alcohol Clin Exp Nada* 1997; 21: 122-27. Health Study. *Ann Epidemiol* 1996; 6: 283-89.
102. Kosel BW, Aweeka FT, Benowitz NL, Shade SB, Hilton JF, Lizak PS, Abrams D: The effects of cannabinoids the pharmacokinetics of indinavir and nelfinavir. *AIDS* 2002; 16: 543-50.
103. Grinspoon S, Corcoran C, Askari H et al.: Effects of androgen administration in men with AIDS wasting: a randomized, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1998; 129: 18-26.
104. Moley, Graeme J MD, Schoelles K MD et al.: Efficacy of Selected Treatments on HIV Wasting: A systematic Review and Meta-Analysis. *JAIDS. Management of HIV Wasting Syndrome: A consensus Conference* 2004; December 1; 37 (Supl. 1): S262-S276.
105. Storer TW, Woodhouse LJ, Sattler F et al.: A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Nandrolone Decanoate in Human Immunodeficiency Virus-Infected Men with Mild to Moderate Weight Loss with Recombinant Human Growth Hormone as Active Reference. *Treatment* 2005 August; 90 (8): 4474-4482.
106. Dolan, S, Wilkie, S, Aliabadi, N y cols.: Effects of testosterone administration in human immunodeficiency virus-infected women with low weight: a randomized placebo-controlled study. *Arch Intern Med* 2004; 164: 897.
107. Kaplan G, Thomas S, Fierer DS et al.: Thalidomide for the treatment of AIDS-associated wasting. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000; 16: 1345-1355.
108. Baum MK, Shor-Posner G, Lu Y, Rosner B, Sauberlich HE, Fletcher MA et al.: Micronutrient and HIV-1 disease progression. *AIDS* 1995; 9: 1051-1056.
109. ASPEN Board of Directors. Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and paediatric patients. *JPEN* 2002; 26 (Supl. 1): 85SA-88SA.
110. Salas J, García Lorda P: The metabolic puzzle during the evolution of HIV infection. *Clin Nutr* 2001; 20 (5): 379-391.
111. Keithley JK, Swanson B, Nerad J: HIV/AIDS. En: *The Science and Practice of Nutrition Support. A Case-Based Core Curriculum*. ASPEN 2001; USA: 619-642.
112. Stratton RJ, Green CJ, Elia M: Disease- Related Malnutrition: as Evidence-based approach to treatment. CABI Publishing (ed). *UK* 2003; 197-236; 702-706.
113. Keithley JK, Swanson B: Oral Nutritional Supplements in Human Immunodeficiency Virus Disease: A review of the evidence. *Nutr Clin Pract* 2001; 16: 98-104.
114. Keithley JK, Swanson B, Zeller JM, Sha BE, Cohen M, Hershow R, Novak R: Comparison of standard and Immune-Enhancing Oral Formulas in Asymptomatic HIV-Infected Persons: A Multicenter Randomized Controlled Clinical Trial. *JPEN* 2002; 26 (1): 6-14.
115. Guidelines for the USE of Parenteral and Enteral Nutrition in Adult and Pediatric Patients. ASPEN. Board of Directors and The Clinical Guidelines Task Force. *JPEN* 2002; 1 supplement: 85SA-87SA.
116. Kotler DP, Fogleman L, Tierney AR: Comparison of total parenteral nutrition (TPN) and an oral, semielemental diet on body composition, physical function, and nutrition-related costs in patients with malabsorption due to acquired immunodeficiency syndrome. *JPEN* 1998, 22: 120-126.
117. Gelas P, Cotte L, Poitevin-Later F et al.: Effect of Parenteral Medium- and Long-chain Triglycerides on Lymphocyte subpopulations and functions in patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome: A prospective study. *JPEN* 1998, 22: 67-71.
118. Alvarez J: Soporte nutricional en pacientes infectados por VIH. En: *Tratado de Nutrición Artificial*. Celaya S (ed). Grupo Aula Médica SA. Madrid 1998, pp. 369-384.
119. Iglesias C, de Cos A, Castillo C, Gómez C: Nutrición Artificial Domiciliaria y SIDA. En: *Manual de Nutrición y SIDA*. R Polo (3rd ed). Madrid 2002, pp. 246-269.
120. McComsey G, Leonard E: Metabolic complications of HIV therapy in children. *AIDS* 2004; 18: 1753-1768.
121. Kruzich LA, Marquis GS, Carriquiry AL, Wilson CM, Stephens CB. US youths in the early stages of HIV disease have low intakes of some micronutrients important for optimal immune function. *J Am Diet Assoc* 2004 Jul; 104 (7): 1095-101.
122. Mellado MJ: Problemas nutricionales y manejo nutricional del niño con infección por VIH. En *Manual de nutrición y SIDA*. Ed: R. Polo. 2000: 168-204.
123. The National Academies. Health, diet and eating patterns of children and youth. 2005. <http://www.nap.edu/books/0309097134/html/35.html>
124. The National Academies. Food marketing to children and youth: threat or opportunity. 2005. <http://darwin.nap.edu/books/0309097134/html/35.html>
125. Miller TL: Nutritional aspects of HIV-infected children receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2003; 17 (Supl. 1): S130-40.
126. Ramos JT, De José MI, Polo R, Fortuny C, Mellado MJ, Muñoz-Fernandez MA et al: Recomendaciones CEVIH/SEIP/AEP/PNS respecto al tratamiento antirretroviral de niños y adolescentes infectados por VIH. *An Esp Ped* 2005; 60: 262-268.
127. Wittenberg D, Benitez CV, Canani RB, Hadigan C, Perin NM, Rabinowitz S, Ukarapol N; Commonwealth Association of Paediatric Gastroenterology and Nutrition: HIV Infection: Working Group Report of the Second World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004 Jun; 39 (Supl. 2): S640-6.
128. Smit E: Balancing the health benefits and the risks of obesity among HIV-infected youth. *J Am Diet Assoc* 2004 Oct; 104 (10): 1554-60.
129. Jacobson DL, Spiegelman D, Duggan C, Weinberg GA, Bechard L et al.: Predictors of bone mineral density in human immunodeficiency virus-infected children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 41: 339-46.

Alimentos funcionales

Recovery from experimental malnutrition with soymilk: immunological and genetic aspects

S. Fontenla de Petrino*, A. Prchal**, M. Fontenla*, A. M.^a Cena*, J. Gómez*, S. Pintos* and M.^a C. Peral*

**Cátedra de Biología. Departamento Biomédico. **Cátedra de Neurociencia. Departamento de Investigación. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Tucumán. R. Argentina.*

Abstract

Experimental malnutrition models have been useful to study the effects of malnutrition at early ages. Substantial evidence exists that malnutrition in critical stages of development could result in chromosomal damages. The effect of nutritional rehabilitation with soymilk as a complement of a restricted diet, on plasma and muscle proteins, chromosomal integrity, and unspecific and mucosa immune responses, was studied.

Adult male and female Wistar rats (5 weeks old) were assigned to different nutritional conditions: a) 14 days on protein restricted diet (corn flour and water), followed by 14 days in which water was replaced by soymilk, as nutritional rehabilitation; b) the same conditions above but periods of 28 days of a protein restricted diet, and 28 days of nutritional rehabilitation and c) age-matched malnourished (protein restricted diet without nutritional rehabilitation) and normally nourished controls.

After both nutritional rehabilitation periods, the weights reached were significantly higher ($p < 0.001$) than the malnourished control values, but lower than the normal control ones. Plasma protein concentrations were similar in all groups. Muscle proteins that were diminished during the restricted diet, reached normal control values after both rehabilitation periods. The protein restricted diet, produced numeric and structural chromosomal abnormalities. Nutritional rehabilitation was only partially able to revert these abnormalities. The phagocytic activity and gut mucosa IgA-secreting cells were significantly reduced ($p < 0.001$) during the restricted diet; both nutritional rehabilitation periods induced a significant increase of both, phagocytic activity and IgA secreting cells. These values were similar to controls.

RECUPERACIÓN DE LA MALNUTRICIÓN EXPERIMENTAL CON LECHE DE SOJA: ASPECTOS INMUNOLÓGICOS Y GENÉTICOS

Resumen

Los modelos de malnutrición experimental han sido útiles para estudiar los efectos de la misma en edades tempranas. Hay evidencia sustancial de que la malnutrición en etapas críticas del desarrollo podría producir daños cromosómicos. Se estudió el efecto de la rehabilitación nutricional con leche de soja como complemento de una dieta restringida sobre las proteínas plasmáticas y musculares, la integridad cromosómica y las respuestas inmunitarias inespecíficas de las mucosas.

Se asignaron ratas Wistar adultas macho y hembra (5 semanas de edad) a distintas condiciones nutritivas: a) 14 días con una dieta de restricción de proteínas (harina de maíz y agua), seguida de 14 días en los que se reemplazó el agua por leche de soja, como rehabilitación nutricional; b) las mismas condiciones anteriores pero con períodos de 28 días de dieta con restricción de proteínas y 28 días de rehabilitación nutricional; c) controles desnutridos (dieta de restricción proteica sin rehabilitación nutricional) y adecuadamente nutridos, emparejados por edad.

Tras ambos períodos de rehabilitación, los pesos alcanzados fueron significativamente superiores ($p < 0,001$) que las cifras en los controles desnutridos, pero inferiores a las de los controles normales. La concentración plasmática de proteínas fue similar en todos los grupos. Las proteínas plasmáticas, que estaban disminuidas durante la restricción dietética, alcanzaron los valores de los controles normales tras ambos períodos de rehabilitación. La dieta con restricción proteica produjo anomalías en el número y estructura de los cromosomas. La rehabilitación nutricional sólo pudo revertir parcialmente estas anomalías. La actividad fagocítica de las células intestinales productoras de IgA estaba significativamente disminuida ($p < 0,001$) durante la dieta restringida; ambos períodos de rehabilitación nutricional produjeron aumentos significativos de ambos parámetros. Estos valores eran similares a los controles.

Nuestros resultados muestran que la complementación con leche de soja de una dieta restringida en proteínas mejoró el contenido tisular de proteínas así como las

Correspondence: S. Fontenla de Petrino
José Colombres, 255
4000 S. M. de Tucumán - R. Argentina
E-mail: fontenla@arnet.com.ar
cbiologia@fm.unt.edu.ar

Recibido: 23-XII-2005.
Aceptado: 19-V-2006.

Our results show that the supplementation of a protein-restricted diet with soymilk improved tissue protein content, as well as unspecific and gut mucosa immune responses, even though it was not able to reinstate fully normal body weight and a normal chromosome karyotype.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:244-51)

Key words: *Malnourish. Soymilk. Chromosome abnormalities. Mucosa immunity. IgA.*

Background

Protein-energy malnutrition in children has been recognized as the most widespread nutritional problem around the world¹. This disorder produces biochemical alterations leading to poor growth. The growth retardation varies in accordance with the severity and duration of the nutritional deficiency².

Experimental malnutrition models have been useful to study the effects of malnutrition at early ages. Substantial evidence exists that malnutrition in critical stages of development could result in chromosomal damages³. Effects of starvation and marginal malnutrition on rat lymphocytes have been evaluated by chromosomal analysis before and after rehabilitation; reported results indicated that young animals exposed to conditions like starvation or chronic malnutrition are prone to permanent damage of the genetic system⁴. Cortés *et al*⁵ reported that malnutrition during lactation in rearing rats is associated with significantly increased DNA damage in spleen, peripheral blood, and bone marrow cells, as well as in isolated lymphocytes or lymphoid cells from the same tissues. This damage could be due to the deficiency of several essential nutrients required for protein synthesis that are associated with DNA integrity, impaired DNA repair mechanisms, and/or to the unavailability of molecules necessary to protect cells against DNA oxidative damage.

On the other hand, the increased level of DNA damage in peripheral blood lymphocytes and leukocytes could be related to negative effects, such as a deficient immune response, resulting in severe consequences, like relapse of previous infectious diseases or emergence of new ones. In fact, malnutrition results in reduced a number and functions of T-cells, phagocytic cells, and secretory immunoglobulin A antibody response. In addition, levels of many complement components are reduced⁶.

Protein malnutrition often coexists with deficiencies of specific micronutrients, such as zinc⁷, iron⁸, vitamin A⁹, folate¹⁰, and others, suggesting that the immune-depressing effects of protein deficiency may be the result of these associated micronutrient deficiencies.

An ideal food for the prevention and management of malnutrition should be of high nutritive value. Taking into account its nutritional profile¹¹ and health ef-

respuestas inmunitarias inespecíficas y de la mucosa intestinal, aunque no fue capaz de restablecer por completo a la normalidad el peso corporal y el cariotipo cromosómico.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:244-51)

Palabras clave: *Desnutrido. Leche de soja. Anomalías cromosómicas. Inmunidad de la mucosa. IgA.*

fects¹², soy could be considered as an ideal food for the prevention and management of malnutrition. In this line, we performed this study in order to determine the effect of the nutritional rehabilitation with soymilk, as a complement of a restricted diet, for as long as the malnutrition had lasted, on plasma and muscle protein levels, chromosomal abnormalities, and the unspecific and mucosa immune responses.

Material and methods

Animals

Male and female Wistar rats, supplied by the School of Medicine Central Animal Facilities (Universidad Nacional de Tucumán, Argentina), were used. Animals aged 5 weeks and weighing 85 ± 5 g each, were housed in plastic cages, in a temperature-controlled room (21 ± 1 °C) with a controlled 12-hour light-darkness cycle (light on at 7:00 AM). Liquids and food of the different diets were available *ad libitum*. All experimental procedures were done in accordance with the relevant directives of the European Union (86/609/EEC) and the rules and recommendations of the FESSCAL (Federación de Sociedades Sudamericanas de la Ciencia de Animales de Laboratorio).

Experimental Design

Animals were subject to a protein-restricted diet (corn flour and water), for two different periods of time, after which water was replaced by soymilk (AdeS, Unilever, Argentina) for nutritional rehabilitation. The first group (d28) received a 14 day period of nutritional rehabilitation after a similar time (14 days) of a protein-restricted diet. For the second group (d56) the periods of malnutrition and nutritional rehabilitation lasted 28 days each. Normally nourished and malnourished (without nutritional rehabilitation) age matched animals were used as controls (fig. 1).

On the 14th, 28th and 56th day, 6 rats from each control and experimental group were weighted and then anesthetized with ethylic ether and a sample of peripheral blood was taken. After that, the animals were killed by overexposure to ether. Then, the other samples such as peritoneal cells, quadriceps muscles and small intestine were taken (fig. 1).

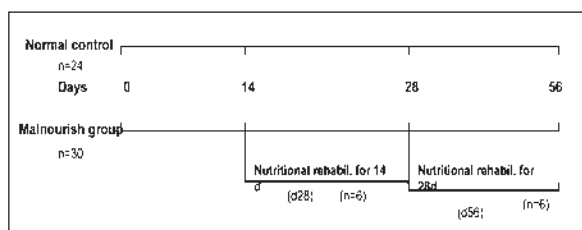


Fig. 1.—Experimental design.

The commercial soymilk used in this study (AdeS, Unilever, Argentina) is elaborated from a non-transgenic variety of soy. Its components are: protein: 2.6 g%; carbohydrates: 4 g%; fat: 1.5 g%, fiber: 0.5 g%; minerals: Ca, 11 mg%; Fe 0.5 mg%; P, 40 mg%, Mg, 16 mg%; Na, 80 mg%; K, 150 mg%; vitamins: A, 60 mg%; B₆, 0.2 mg%; B₉, 20 mg%; B₁₂, 0.1 mg%; D, 0.5 mg%, Isoflavones, 6.4 mg% (daidzein: 2.4 mg% and genistein: 4 mg%).

Normally nourished rats received a commercial laboratory food (Cargill, Buenos Aires, Argentina). This commercial diet contains 24.6% of proteins from animal and vegetal origin.

Plasma and Muscle Protein concentration

Plasma protein concentration was determined by the Biuret method¹³ (Proti-2, Wiener Lab, Rosario, Argentina) using a control serum (Proti-2 Suero Patrón, Wiener Lab, Rosario, Argentina) as a standard.

In order to determine muscle protein, right hind limbs were removed and skinned. Quadriceps muscles were rapidly dissected, rinsed with saline solution to eliminate blood remnants, dried with tissue paper, and weigh. Tissues were homogenized in phosphate buffer pH 7 (w/v = 1/5). Then, 0.1 ml of Triton X-100 was added and mixed for 5 minutes. Finally, the homogenate was centrifuged at 20,000 rpm for 30 minutes. Proteins were determined in the supernatants by the Biuret method (Proti-2, Wiener Lab, Rosario, Argentina).

Results for both plasma and muscle protein concentrations are expressed in g%.

Cytogenetic analysis

In order to perform cytogenetic analysis, peripheral blood samples to which 1%, Sodium Heparin, 5,000 UI/ml (PL. Rivero y cia. SA, Industria Argentina) were obtained from the jugular vein and was added at the periods described above. Thirty drops of heparinized whole blood were added to each of two 15-ml polypropylene centrifuge tubes (Cellstar™, Greiner bio-one, Germany) with 5 ml of RPMI 1640 culture medium (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA) each, supplemented with 10% fetal calf serum (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA), 2% glutamine (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA), 1% phytohemagglutinin M-

form (PHA-M) (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA) and 0.1% gentamycin (Shering-Plough SA, Key Pharma S.A. Argentina) using a 21-gauge needle (Terumo, Japan). Cultures were incubated at 37 °C for 72 h. At harvest time, to each culture 2 drops of Colcemid (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA), were added, using a 25-gauge needle (Terumo, Japan), incubated for 30 more minutes at 37 °C, and centrifuged for 8 minutes at 1,000 rpm. Then, the supernatant was removed, 4 ml of 0.075 M KCl were added to each pellet while kept in a 37°C water bath, and resuspension performed. Immediately, cell suspensions were centrifuged for 8 min at 1,000 rpm, supernatants were removed, pellets were resuspended into 4 ml of fresh 0.075 M, KCl each, 5 drops of 3:1 methanol-acetic acid mix added in order to begin fixating the cells, centrifuged immediately for 8 min at 1,000 rpm, and resuspended into fresh 3:1 methanol-acetic acid mix. Pelleting and resuspension were repeated two more times. For making slides, 3-6 drops of cell suspension were poured along the upper long edge of a cold, wet slide, held in parallel to the lab counter with its surface at a 45° angle; the back and the bottom of the slide were dried immediately with tissue paper. Phase contrast microscopy (CH Olympus, Japan) was used to make sure that chromosomes were well spread and metaphases devoid of cytoplasm; if not, drying time were adjusted accordingly. Slides were placed in the oven at 95 °C for 20 min for aging. Aged slides were immersed in 10% trypsin solution in 0.9% NaCl (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA), for 50 seconds, and then in two baths of 0.9% NaCl solution; immediately, each slide was stained for 2 minutes with a fresh mix of pHydrión buffer (Micro Essential Laboratory Inc. U.S.A.) (3 ml) and 0.25% Wright's stain (1 ml), (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA).

In order to determine the mitotic index, the total number of metaphases was counted in 100 nuclei and expressed as percentage.

The chromosomal abnormalities were analyzed in 50 G-banded metaphases per animal. Then, they were photographed, and their chromosomes counted on black and white prints. 3-5 of these metaphases were selected and karyotyped. Karyotypes were carried out according to nomenclature rules for rat G-banded chromosomes¹⁴.

Phagocytosis Test

The non-specific immune response was performed by an *ex vivo* phagocytosis test using peritoneal macrophages according to *Perdigón et al., 1986*¹⁵. Peritoneal cells from rats of different groups and feeding periods were recovered. Macrophages were suspended at a concentration of 10⁶ cells/ml in 5 ml of RPMI-1640 medium (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA) supplemented with 0.3% (v/v) sodium heparin (PL. Rivero y cia. S.A., Industria Argentina). Then, 0.2 ml of *Candida albicans* suspension at a concentration of 5 x

10⁶ microorganisms/ml opsonized with rat autologous serum was added to 0.2 ml of each macrophage suspension and incubated for 15 min at 37 °C. The reaction was stopped by icing. Immediately, smears were made, air dried, and stained with Giemsa (Biopack, Sistemas Analíticos SA, Buenos Aires, Argentina). The phagocytosis rate was measured by counting 100 cells from each of three smears per animal. The results were expressed as the mean $\pm$ SD of the percentage of macrophages that had one or more yeast cells phagocytosed.

Counting of IgA Secreting Cells by Immunofluorescence

As indicated above, samples from the small intestine were removed. The intestinal fluids were washed out with 0.01 M phosphate buffered saline solution, pH = 7.2. Tissues were placed in cold ethanol (96°) for processes with the Saint-Marie's technique¹⁶. Once fixed, dehydrated and embedded in paraffin at 56 °C, they were cut in 4 mm serial sections, and used to perform the immunofluorescence test in order to determine the number of IgA producing cells.

Histological samples from the small intestine were incubated with 0.2 ml of goat anti-rat IgA (a chain specific, Bethyl Inc., Montgomery, Texas, USA) at 1/20 dilution for 30 min, in a wet chamber at room temperature. Then, they were washed three times with 0.01 M phosphate buffered saline, pH = 7.2. A 1/100 dilution of the second antibody, fluorescein-conjugated rabbit F(AB')₂ fragment to goat IgG, whole molecule (Cappel, ICN Pharmaceuticals Inc., Costa Mesa, California, USA), was added and incubated for 30 min at room temperature. Afterward, the slides were rinsed again three times with the same buffer, air-dried, and mounted with 1:9 glycerol-buffer, pH 9.

Three histological sections from each animal and for each period were analyzed. The number of IgA-positive cells within villi lamina propria was determined in 30 fields (magnification 40x). The results were expressed as the mean $\pm$ SD of positive cells in the lamina propria per 10 villi.

Statistical Analysis

All statistical calculation was carried out with Sigma Stat software package (Jandel Scientific, San Raphael, California, USA). Differences between diet groups were analyzed by one way analysis of variance (ANOVA), and Dunnet's test was used as a post-hoc test. Differences were considered significant if $p < 0.05$.

Results

Effect of Soymilk rehabilitation on body weight records

Figure 2 shows weight evolution during the experiment periods across different diet groups. At

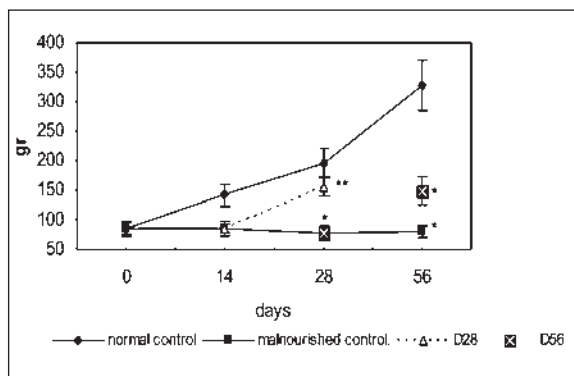


Fig. 2.—Effects of diets on body weights. * = $p < 0.001$. ** = $p < 0.01$.

the beginning of the study, the mean body weight was 85 ± 5 g. A normally nourished animal regularly increased in body weight while malnourished does not. Weights reached, after both periods of nutritional rehabilitation were significantly superior ($p < 0.001$) to the malnourished control values, but significantly diminished when compared to age-matched normal control ones (d28: $p < 0.01$, d56: $p < 0.001$).

Effect of Soymilk rehabilitation on Plasma and Muscle Protein

Plasma Protein concentration did not show significant differences between experimental and control groups at any data point (table I). However, muscle proteins tested were significantly decreased during the restricted diet ($p < 0.01$) in relation to the normal group. After both rehabilitation periods, muscle protein levels were similar to those showed by normal control groups. These results are detailed in figure 3.

Effect of Soymilk rehabilitation on the mitotic index and on induced chromosomes abnormalities

During the restricted diet, the mitotic index was significantly lower in malnourished rats when compared with age-matched normal controls ($p < 0.005$). Nutritional rehabilitation with soymilk was able to restore normal values when malnutrition had lasted 14 days

Table I
Plasma protein concentrations (g%) during different diets

Days	Normal control	Malnourished control	D28	D56
14	4.9 $\pm$ 0.8	4.5 $\pm$ 0.6	4.5 $\pm$ 0.6	
28	5.2 $\pm$ 0.6	4.0 $\pm$ 0.6	5.2 $\pm$ 0.4	4.0 $\pm$ 0.6
56	5.0 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.5		5.1 $\pm$ 0.7

Malnutrition did not significantly affect the plasma protein.

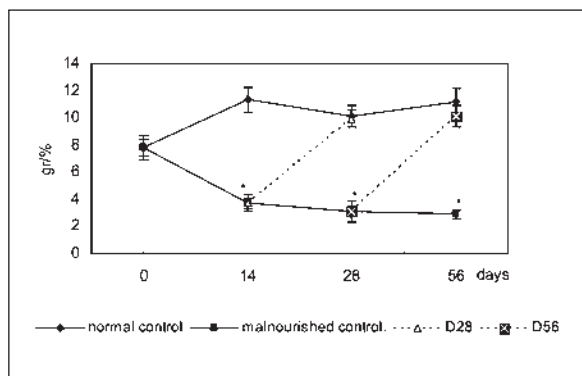


Fig. 3.—Effects of diets on muscle proteins. * $p < 0.01$.

(d28), but not when it lasted 28 days (d56): in this case, the mitotic index of nutritionally rehabilitated animals was only 80-85% of that showed by normal control (table II).

After 14 days of the restricted diet, numeric chromosomes abnormalities consisting of hypodiploid metaphases with 38-39 chromosomes, nullisomies (chromosome pair 20 lost) and monosomies (e.g.: one chromosome lost from pair 17, 14, and 11). Other numeric abnormalities like trisomies (e.g. pair 17) were also observed (fig. 4).

After 28 days of protein malnutrition, besides the numerical abnormalities, we observed structural anomalies like robertsonian translocations [T(8;8)]. Unidentified marker chromosomes were also observed in 80% of the metaphases analyzed (fig. 5). A robertsonian translocation is originated by a centric fusion of the long arms, of the acrocentric chromosomes, usually with simultaneous loss of both short arms¹⁵. A marker chromosome (mar) is a structurally abnormal chromosome in which no part can be identified by routine banding. In the description of karyotypes the presence of a mar must be preceded by a plus sign (+). When several different markers are clonally present, they may be indicated by an Arabic number after the symbol mar, e.g. mar 1, mar 2, etc. It must be stressed that this does not mean derivation of the

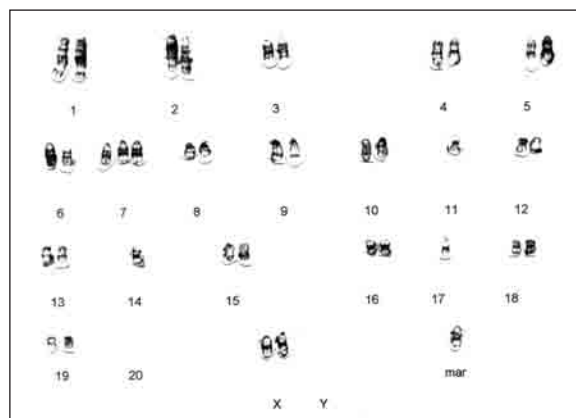


Fig. 4.—Numeric and structural chromosome abnormalities induced by a 14 day protein restricted-diet. Karyotype of trypsin-Wright- banded metaphase cells, from a malnourished rat: 39,XX, +7,-11,-14, -17,-20,-20,+ mar. This figure shows a karyotype with one additional 7 chromosome (trisomy), with loss of the 11, 14 and 17 chromosomes (monosomies), with loss of both 20 chromosomes (nullisomy) and one additional marker chromosome (mar+).

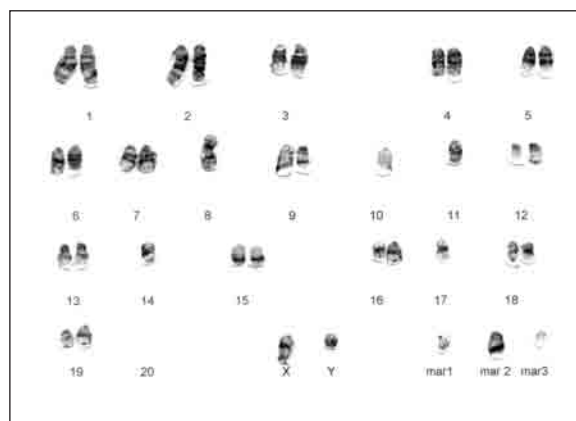


Fig. 5.—Numeric and structural chromosome abnormalities induced by a 28 day protein restricted-diet. Karyotype of trypsin-Wright- banded metaphase cells: 38,XY, tRB(8;8)1F,-10, -11,-14, -17,-20,-20,+mar1, +mar2, +mar3. This figure shows a karyotype with a robertsonian translocation tRB(8;8)1F, with loss of the 10, 11, 14, and 17 chromosomes (monosomies), with loss of both 20 chromosomes (nullisomy) and three different additional marker chromosomes (+mar1, +mar2, +mar3).

Table II Mitotic Index (%)				
Days	Normal control	Malnourished control	D28	D56
14	7.3 ± 2	3.0 ± 1*	3.0 ± 1	
28	7.0 ± 2	1.5 ± 2*	6.8 ± 1	1.5 ± 2
56	7.2 ± 1	1.5 ± 1*		5.8 ± 1

Malnutrition significantly decreased the mitotic index. Nutritional rehabilitation with soymilk fully reverted this effect at D28 but only partially at D56. * $p < 0.01$

marker from chromosome 1, chromosome 2, and so on¹⁷.

After 14 days rehabilitation with soymilk, a normal karyotype (42, XX or 42, XY) (fig. 6) was observed in 54% of the analyzed metaphases; however, animals that had to undergo rehabilitation for 28 d displayed only 16% chromosomally normal metaphases.

Effect of Soymilk on the Phagocytic Activity

Figure 7 shows the phagocytic activity of rat peritoneal macrophages in the different experimental

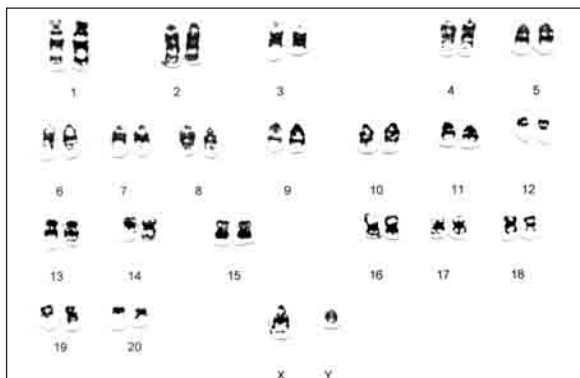


Fig. 6.—Karyotype of nutritionally rehabilitated rat. This figure shows a normal karyotype after 14 days of rehabilitation with soymilk complement (42, XX or 42, XY).

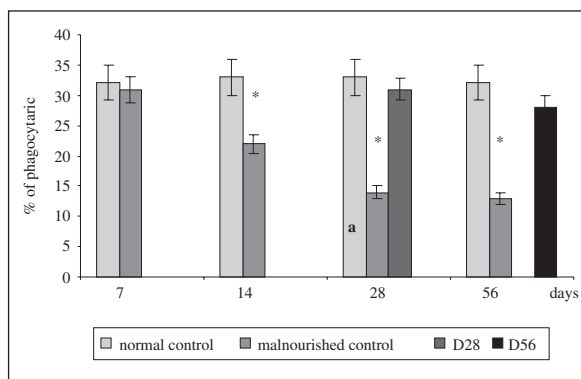


Fig. 7.—Effect of the rehabilitation with soymilk on phagocytic activity. * ($p < 0.001$).

groups. It can be seen that phagocytosis was significantly reduced ($p < 0.001$) in the restricted diet groups compared with the normal control. After both periods of soy milk rehabilitation, phagocytosis percentages incremented to values similar to those displayed by age-matched normal controls.

Effect of a Soymilk complement on the Number of IgA-secreting Cells

This assay was performed in order to determine the effect of the rehabilitation with soymilk as a complement of the restricted diet on the gut mucosa immunity.

In this case, results were similar to the phagocytic assays, i.e. numbers of IgA-positive cells were significantly reduced ($p < 0.001$) among malnourished animals when compared to normal control ones. The soymilk administered during both rehabilitation periods produced a remarkable increment in the number of IgA-producing cells in the *lamina propria* of villi of intestinal mucosa, reaching values similar to the normal ones (fig. 8).

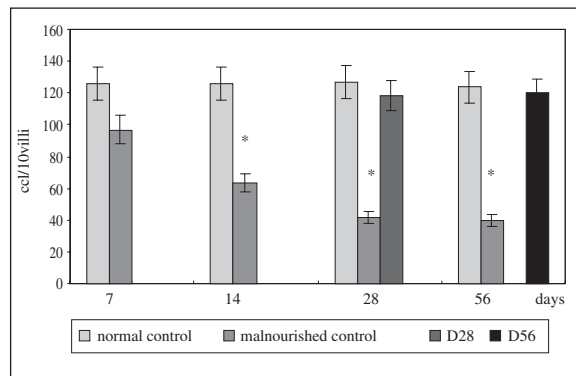


Fig. 8.—Effect of the rehabilitation with soymilk on the gut mucosa immunity.

Discussion

Malnutrition is multifactorial; however, the immediate cause of this condition is inadequate intake and poor utilization of nutrients due to inadequate food supply or poor quality foods¹⁸. There is considerable evidence that malnutrition has effects on physical growth, morbidity, mortality, cognitive development, reproduction, physical work capacity and risks for several adult onset chronic diseases^{19,20}.

Soymilk, as well as a combination of soybeans with maize, has been found to be valuable in the management of malnutrition²¹.

In our study we used a rat model of chronic malnutrition, in which corn flour was the only solid food intake. This diet initially produced some weight loss, but its most remarkable effect in this regard was the absolute failure to gain weight (fig. 2). This result is similar to that reported by Qureshi *et al*²². Rehabilitation of malnourished animals by complementing the restricted diet with soymilk, allowed a significant but incomplete weight recovery (fig. 2).

Moreover, malnutrition produced a significant decrease of muscle but not plasma protein (fig 3 and table I). Similar findings have been reported in other studies that showed that there was a marked reduction in the rate of muscle proteins synthesis in rats fed a low protein diet²³, and of proteins in muscle and other organs and tissues in rats fed a protein-free diet²⁴. It was postulated that chronic protein deficiency leads to an overall reduction of protein synthesis that does not include certain plasma proteins. In others words, the protein metabolic response to the nutritional stress could be a redistribution of amino acids from the peripheral tissues to the liver for the synthesis of proteins that have a rapid turn over and are critical for survival²⁵.

The nutritional quality of a protein food depends on content, digestion, absorption, and utilization of amino acids. Availability of amino acids varies with protein source, food processing treatment, and interaction

with other components of the diet. Thus in the case of the diets used in our experiments it is important to note that corn proteins are of poor quality because of their low tryptophan and lysine content²⁶. On the other hand, there are data showing that well-processed soy-protein isolates and soy-protein concentrates can serve as the major, or even sole, source of protein intake and that their protein value is essentially equivalent to that of food proteins of animal origin²⁷. The soy milk we used (ADES) had all the essential amino acids. In this way it could be explained how nutritional rehabilitation with soy milk as a complement of corn flour, induced a tissue protein recovery to almost normal values (fig. 3).

Some authors^{3,28} have reported that malnutrition provokes chromosome anomalies, while others postulate the opposite^{29,30}. In the present work, we detected abnormalities of the cell chromosome number after two weeks of malnutrition (fig. 4). Our data show that the longer period of the protein restricted diet, the more affected is the integrity of the chromosomes (fig. 5). Once chromosomal damage has occurred, nutritional rehabilitation with soymilk consistently has a limited effect in reverting it (fig. 6). This limitation is more noticeable when the length of the malnutrition period increases in spite of the fact that the rehabilitation period also increased. In this regard, our results agree with Alu and Murthy³. The lack of chromosomal abnormalities reported by others^{24,25} may be due to differences in the restricted diet and the techniques used for detecting them.

We have also observed that the restricted diet provokes a significant decrease in the lymphocyte mitotic index, which was reverted to a considerable degree when we complemented the restricted diet with soymilk (table II). This agrees with papers using other cell systems in experimental animals^{31,32}. We think that this effect could be due mainly to the deficiency of essential amino acids and micronutrients that are necessary for the protein synthesis of mitotic spindles.

It is a well known fact that protein malnutrition induces a decrease in phagocytic activity of peritoneal macrophages³³. Our results corroborate that the phagocytic function of macrophages is susceptible to protein malnutrition (fig. 7). It has been suggested that functional alterations of macrophages may be associated with micronutrient deficiencies, since protein restriction often coexists with them^{6,7}.

IgA-secreting cells play an important role in the local immunological defense against pathogens and damage resulting from absorption of foreign antigens³⁴. Also, dietary protein, minerals and vitamins are important in the mucosal IgA response of the small intestine⁵. Results reported here confirm this, since a significant decrease of IgA producing cells in the gut *lamina propria* was observed during the experimental malnutrition (fig. 8).

Early nutritional rehabilitation is needed to improve survival of malnourished individuals and to support

immune responses⁸. Our results show that the rehabilitation with soymilk-complemented corn flour increased notably not only the peritoneal macrophage activity, but the mucosal immune function as well by stimulating the IgA-secreting cells (fig. 7 and 8). These data would suggest that high quality soy protein¹⁰ and/or micronutrients present in the soymilk administered like A, B₁₂, B₆, B₉ vitamins and iron, may enhance or preserve immune function. The latter is supported by reports that the use of micronutrient supplements, singly or in combination, stimulates immune response and thus influences the susceptibility of a host to infectious diseases³⁵.

The mechanisms by which the soymilk complement may exert immunomodulator effects have to be investigated. We hypothesize that the nutritive components of the soymilk could induce, within the lamina propria, T cells to produce Th₂ IgA stimulating cytokines, which could modulate IgA production by B cells.

On the other hand, soy oligosaccharides (raffinose and stachyose) could have a prebiotic effect. Prebiotics are indigestible food ingredients that can beneficially affect the host by selectively stimulating the growth and/or activity of certain endogenous microbial population groups such as bifidobacteria and lactobacilli³⁶. It has been reported that bifidobacteria enhances immune responses by increasing antibody production and proliferation of B cells in Peyer's patches³⁷.

In our experimental model, the supplementation of a restricted diet with soymilk, for a period of time identical to that of the previous malnutrition, normalizes tissue protein concentration, and appears to do the same with unspecific and gut mucosa immune responses; however the diet does not permit the recovery of fully normal body weight and the elimination of chromosomal abnormalities. We consider that a longer rehabilitation time would be necessary for complete recovery.

Acknowledgements

This work was carried out with the facilities of the School of Medicine at the National University of Tucumán, Argentina.

The authors thank UNILEVER (Argentina) for free supplying the AdeS soymilk used in this work. We also grateful thank Patricia Black-Decima, PhD for their helpful discussions during the preparation of the manuscript.

References

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Undernourishment around the world. In: *The state of food insecurity in the world 2004*. Rome; 2004.
2. Muller O, Krawinkel MC: Malnutrition and health in developing countries. *CMAJ* 2005; 173: 279-286.
3. el-Ghazali S, Mikhail M, Awadallah M, Shatla H: Significant increase of chromosomal damage in protein energy malnutrition. *J Trop Med Hyg* 1990; 93: 372-376.

4. Alu V, Murthy PB: Chromosomal abnormalities in starved and marginally malnourished rats and in uterus upon rehabilitation. *Experientia* 1993; 49: 258-262.
5. Cortés E, González C, Betancourt M, Ortiz R: Assessment of DNA damage in spleen, bone marrow and peripheral blood from malnourished rats by single cell gel electrophoresis assay. *Teratog Carcinog Mutagen* 2001; 21: 231-247.
6. Chandra RK: Nutrition and immunology: from the clinic to cellular biology and back again. *Proc Nutr Soc* 1999; 58: 681-683.
7. Shankar AH, Prasad AS: Zinc and immune function the biological basis of altered resistance to infection. *Am J Clin Nutr* 1998; (Supl. 2): 447S-463S.
8. Openheimer SJ: Iron and its relation to immunity and infections disease: *J Nutr* 2000; (Supl. 2-2): 616S-633S.
9. Field CJ, Johnson IR, Schey PD: Nutrients and their role in host resistance to infection. *J Leukoc Biol* 2002; 71: 16-32.
10. Daly LE, Kirke PN, Molloy A, Weir DG, Scott JM: Folate levels and neural tube defects. *J Am Med Assoc* 1995; 274: 1698-1702.
11. Young VR: Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition. *J Am Diet Assoc* 1991; 7: 828-835.
12. Messina MJ: Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *Am J Clin Nutr* 1999; (Supl. 3): 439-450.
13. Itzhaki RF, Gill DM: A micro-biuret method for estimating proteins. *Anal Biochem* 1964; 9: 401-410.
14. Levan G: Nomenclature rules for rat chromosome G-Bands. *Hereditas* 1974; 77: 37-52.
15. Perdigón G, Nader de Macías ME, Álvarez S, Oliver G, Pesce de Ruiz Holgado A: Effect of perorally administered lactobacilli on macrophage activation in mice. *Infect Immun* 1986; 53: 104-410.
16. Saint-Marie G: A paraffin embedding technique for studies employing immuno-fluorescence. *J Histochem Cytochem* 1962; 10: 250-256.
17. Mittelman F (Ed): *ISCN 1995. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*. Basel: S Karger Publisher; 1995.
18. King FS, Burgess A: *Nutrition for Developing Countries* (2nd Edition). London: ELBS with Oxford University Press; 1993.
19. Semba RD, Bloem MW (Eds): *Nutrition and Health in Developing Countries*: Humana Press 2001.
20. Martorell R, Rivera J, Lutter CK: Interaction of diet and disease on child growth. In *Breastfeeding, Nutrition, Infection, and Infant Growth in Developed and Emerging Countries*. Edited by Atkinson SA, Hanson LA, Chandra RK. Newfoundland: ARTS Biomedical Publishers and Distributors St. John's; 1990: 307-321.
21. Abiodun PO: Use of soya beans for the dietary prevention and management of malnutrition in Nigeria. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1991; 374: 175-182.
22. Qureshi MI, Qureshi Z: Effect of protein malnutrition on the weight and serum albumin of albino rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2001; 13: 8-10.
23. Tawa NE Jr, Goldberg AL: Suppression of muscle protein turnover and amino acid degradation by dietary protein deficiency. *Am J Physiol* 1992; 263: 317-325.
24. McNurlan MA, Fern EB, Garlick PJ: Failure of leucine to stimulate protein synthesis *in vivo*. *Biochem J* 1982; 204: 831-838.
25. Jahoor F, Wykes L, Del Rosario M, Frazer M, Reeds P: Chronic Protein Undernutrition and an Acute Inflammatory Stimulus Elicit Different Protein Kinetic Responses in Plasma but Not in Muscle of Piglets. *J Nutr* 1999; 129: 693-699.
26. Friedman M, Brandon D: Nutritional and Health Benefits of Soy Proteins. *J Agric Food Chem* 2001; 3: 1069-1086.
27. Young VR: Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition. *J Am Diet Assoc* 1991; 7: 828-835.
28. Vijayalaxmi R: Chromosomal aberrations in malnutrition *Metabolism* 1975; 24: 1415-1417.
29. Khouri FP, McLaren DS: Cytogenetic studies in protein calorie malnutrition. *Am J Hum Genet* 1973; 25: 465-470.
30. Olmos S, García Reinoso F, Márquez MG, Roux, ME: Cytogenetic Studies in Bone Marrow Cells From Wistar Rats in Protein Malnutrition. *Metabolism* 2001; 50: 1025-1029.
31. Dunki J, Ruevekamp M, Hart GA, De Graaf, PW: Dietary influences on cell proliferation in bone marrow. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989; 25: 953-957.
32. Mengheri E, Nobili F, Crocchioni G, Lewis JA: Protein starvation impairs the ability of activated lymphocytes to produce Interferon-Gamma. *J Interferon Res* 1992; 12: 17-21.
33. Teshima S, Rokutan K, Takahashi M, Nikawa T, Kido Y, Kishi K: Alteration of the respiratory burst and phagocytosis of macrophages under protein malnutrition. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1995; 41: 127-137.
34. Mestecky Y, Mcghee JR: Prospect for human mucosal vaccines. *Adv Exp Med Biol* 1992; 327: 13-23.
35. Bhaskaram P: Micronutrient malnutrition, infection, and immunity: an overview. *Nutr Rev* 2002; 60: 40-45.
36. Gibson GR, Roberfroid MB: Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401-1412.
37. Yasui H & Ohwaki M: Enhancement of Immune response in Peyer's Patch cells cultured with *Bifidobacterium breve*. *J Dairy Sci* 1991; 74: 1187-1195.



COMUNICACIONES AL 9.º CONGRESO DE LA
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIRUGÍA DE LA OBESIDAD
7-9 DE MARZO DE 2007

COMMUNICATIONS TO THE 9TH CONGRESS OF THE
SPANISH SOCIETY OF OBESITY SURGERY
7-9 MARCH 2007

GETAFE (MADRID)
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GETAFE

1. Valoración de la imagen corporal y cambios de expectativas en los pacientes sometidos a by-pass gástrico

Cassinello N (1), Fernández R (2), Álvarez S (2), Báguena MJ (2), Ortega, J (1)

(1) Hospital Clínico Universitario, Valencia. (2) Facultat de Psicologia. Universitat, Valencia.

Introducción:

En la evaluación preoperatoria psicológica de la obesidad mórbida hay factores que los pacientes valoran como decisivos para someterse a la cirugía pero que en el seguimiento post-operatorio pueden cambiar. Conforme el paciente obeso mórbido va perdiendo peso, la percepción de su imagen corporal varía, convirtiéndose en más exigente y manteniendo una preocupación hacia la propia imagen que no corresponde con el exceso de peso perdido y la figura alcanzada. El cambio físico va tan rápido que a veces cuesta incorporarlo a la estructura mental provocando expectativas no realistas y distorsionadas de la propia imagen.

Pacientes y métodos:

Se incluyó a 17 pacientes (5 hombres, 12 mujeres) sometidos a by-pass gástrico, con una edad media de 46,8 años y un IMC medio de 45,94 kg/m². Se evaluó la preocupación acerca de la imagen corporal, la autoestima y el nivel de ansiedad-depresión que los pacientes presentaban antes de operarse y a los 6 meses tras la cirugía mediante una batería de cuestionarios entre los cuales se encuentran el HAD Hospital (Anxiety and Depresión Scale), el BSQ (Body Shape Questionnaire) y el cuestionario de autoestima de Rosenberg. Además se evaluó el cambio de expectativas de los pacientes antes de operarse y a los 6 meses tras la realización del by-pass gástrico. Las principales expectativas analizadas fueron: incrementar la movilidad diaria, sentirme más cómodo cuando me relaciono con los demás, incrementar mi funcionamiento ocupacional, mejorar la salud, mejorar la apariencia, mejorar mi vida sexual y mejorar las relaciones con mi pareja o esposa. Para ello se utilizó la entrevista semiestructurada Boston, centrándonos en el apartado relativo a las expectativas.

Resultados:

La valoración de la imagen corporal antes de someterse a la cirugía y transcurridos 6 meses, donde el IMC ha bajado hasta 34,4 kg/m², sigue siendo la misma, es decir, una preocupación moderada por la imagen corporal y la percepción de la figura. Respecto a la autoestima, ésta aumenta transcurridos 6 meses de la operación, al contrario que ocurre con los niveles de ansiedad y depresión que bajan, aunque las diferencias en ambos casos son muy pequeñas. Los factores previos a la operación más importantes para los pacientes son dos: la salud y la movilidad diaria. En el seguimiento a los 6 meses nos volvemos a encontrar con un 100% de importancia de la expectativa relacionada con la mejora de la

salud produciéndose un incremento significativo ($p < 0,05$) en el cambio de expectativas por lo que se refiere al factor de mejorar la apariencia.

Conclusiones:

A los 6 meses tras la realización del by-pass gástrico no se aprecian cambios en la valoración de la imagen corporal y los niveles de autoestima, ansiedad y depresión apenas cambian. El factor subjetivo preoperatorio y postoperatorio que más valora el paciente obeso mórbido es la mejora de la salud, cambiando significativamente en el postoperatorio para mejorar las expectativas relacionadas con la apariencia.

* * *

2. Cuestionario GIQLI tras un año de derivación biliopancreática de Scopinaro

Pagán A, Salinas R, García Sanz M, Ventayol G

Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca.

Introducción:

Presentamos los resultados preliminares de un programa iniciado en 1999 y que consta de 172 pacientes, de los hemos seleccionado dos grupos de pacientes con asa alimentaria de distinta longitud y un seguimiento superior a los dos años en ambos grupos.

Pacientes y métodos:

Propectivamente desde septiembre de 2004 a octubre de 2005 hemos seleccionado dos grupos de pacientes entre el total de la serie, a los que se practicó una derivación biliopancreática de Scopinaro con asas alimentarias de distinta longitud. El cuestionario GIQLI se limitó síntomas gastrointestinales de digestión y defecación con un total de 19 ítems. Se ha realizado el cuestionario a todos los pacientes durante el seguimiento rutinario en las consultas al cumplir el año de la intervención.

Se excluyeron aquellos pacientes con otra intervención asociada que pudiera condicionar alteraciones en el tránsito gastrointestinal y aquellos que no cumplimentaron el cuestionario.

Resultados:

Las características poblacionales de los grupos especificados: Grupo I (asa alimentaria de 250 cm) con 33 pacientes, 27 mujeres y 5 varones con una edad media de 42 (27-65) y un IMC medio de 52 (40-68); Grupo II (asa alimentaria de 300 cm) con 28 pacientes, 21 mujeres y 7 varones con una edad media 43 (30-62) y un IMC medio 52 (45-70). Entre los grupos no hubo diferencias significativas.

No hubo diferencias significativas en las puntuaciones GIQ-LI respecto al ámbito digestivo con una puntuación media de 41,6 para el grupo I y de 40,2 para el grupo II. Si que existió significación en el cuestionario referente a la calidad de vida relacionada con las deposiciones donde la puntuación fue mayor para el grupo II de asa alimentaria larga, 27,6 frente a 25. Cuando se unifican los ítems el cómputo global es el mismo en ambos grupos.

Conclusiones:

La técnica de Scopinaro presenta en nuestro medio unos resultados óptimos y con una baja morbilidad. El alargamiento del asa alimentaria conlleva beneficios con respecto a la calidad de vida de los pacientes intervenidos muy escasos y no afecta al global de la calidad de vida percibida tras la cirugía malabsortiva.

* * *

3. By-pass gástrico por laparoscopia versus derivación biliopancreática. Estudio comparativo utilizando el sistema baros. 4 años de seguimiento

Pujol Rafols J, Catot Alemany L, Pujol Rafols C, Bru Piquer S, Balleño Alberdi T, Gómez C

Clínica Tres Torres, Barcelona.

Objetivos:

Aunque la cirugía ha demostrado ser el tratamiento más eficaz para el control de la obesidad, todavía se mantiene la controversia sobre cual es la mejor opción técnica. El By-pass Gástrico y la Derivación Biliopancreática, son procedimientos quirúrgicos comúnmente aceptados pero hay muy pocos estudios comparativos. El presente trabajo compara sus resultados teniendo en cuenta no sólo la pérdida de peso sino también la mejora de las comorbilidades y la variación en la calidad de vida.

Pacientes y métodos:

Controlamos dos grupos homogéneos de 30 pacientes cada uno intervenidos con una u otra técnica, por el mismo cirujano y con un tiempo de seguimiento mínimo de 3 años. Buscamos posibles diferencias en cuanto a pérdida de peso, estado de salud y calidad de vida. Los datos son recogidos de forma prospectiva. El peso es registrado en kg, IMC y PSP. Se utiliza el test de BAROS (Bariatric Analysis and Reporting Outcome System) para evaluar estados de salud y calidad de vida. Aplicamos un test T para variables independientes fijando un intervalo de confianza del 95% ($p < 0,05$) para aceptar diferencias entre grupos.

Resultados:

El IMC y PSP medio a los 48 meses de la intervención son 29, 29 y 68 y 71 para el By-pass Gástrico y la Derivación Biliopancreática respectivamente. Se registran mejoras significativas en el estado de salud con resolución de comorbilidades en ambos grupos. El 98% de pacientes refieren mejoría en la calidad de vida pero no uniformemente en todas las variables del cuestionario.

Conclusiones:

Mediante la utilización del BAROS es posible comparar resultados de diferentes procedimientos. Tanto el By-

pass Gástrico como la Derivación Biliopancreática demuestran ser ampliamente eficaces no sólo para controlar el exceso de peso sino también para corregir las comorbilidades asociadas y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

* * *

4. Aportaciones psico-sociológicas al concepto de calidad de vida a partir de las discontinuidades vitales percibidas por pacientes operados por la técnica del Roux-en-Y bypass gástrico laparoscópico: una propuesta de dimensionalización teórico-estadística

Sanz J, Masdevall C, Vilarrassa N, Menchón JM

Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona.

Objetivos:

(1) Establecer una relación teórica entre el concepto de discontinuidad vital y calidad de vida de pacientes operados por Roux-en-Y by-pass gástrico laparoscópico; (2) Obtener una visión holística de la calidad de vida mediante la detección de diferentes tipologías de discontinuidad vital que la afectan.

Pacientes:

150 casos de pacientes operados por la técnica del Roux-en-Y by-pass gástrico por laparoscopia. Se han establecido tres subgrupos según el índice de Masa Corporal teniendo en cuenta las variables de edad y sexo.

Métodos:

(A) Recogida de datos. Metodología observacional directa (Boudon, 1967; Travers, 1971; Selltiz y cols., 1976; Van Dalen y Meyer, 1980; Anguera, 1989) y seguimiento de casos clínicos (Strauss and Glaser, 1967; Campbell, 1975; Holder, 1987; Hamel, 1993; Stake, 1995) consistente en la elaboración de registros exhaustivos y diacrónicos de eventos; (B) Entorno de observación y obtención de casos. Consultas externas hospitalarias en las especialidades clínicas de cirugía, endocrinología, psiquiatría y seguimiento dietético (C) Análisis de registros y casos. Interpretative Phenomenological Analysis (Smith, 1996; Golsworthy and Coyle, 1999; Willig, 2001; Shaw, RL, 2001).

Conclusiones:

La percepción de la calidad de vida varía en función del tipo de discontinuidad que impacte en la vida cotidiana del paciente. El grado de satisfacción con la técnica de cirugía bariátrica será mayor o menor dependiendo de la intensidad con la que se manifiesten los diferentes tipos de discontinuidades (relacionadas con la cirugía, personales, familiares, entorno social inmediato institucionales y sistémicas) en la vida cotidiana del paciente. A este efecto, se requiere elaborar instrumentos de medida (cuestionarios) que den cuenta de como afectan cada una de las tipologías de discontinuidades en la percepción global de los pacientes respecto su calidad de vida.

* * *

5. Adaptación transcultural del cuestionario de calidad de vida de Moorehead-Ardelt II en pacientes intervenidos de obesidad mórbida

Martín García-Almenta M (1), Camuñas Segovia J (1), Sánchez Pernaute A (2), Díez Valladares L (2), Martín MD (3), Cerquella Hernández CM (1), Torres García A (2), Morread MK, Ardelt-Gattinger E

Hospital Central de la Cruz Roja, Madrid (1). Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid (2). Hospital, Alcorcón (3).

Objetivo:

Existen numerosos cuestionarios para medir la calidad de vida relacionada con la salud, pero en España no existe ningún cuestionario específico para cuantificar la calidad de vida en pacientes con Obesidad Mórbida. El objetivo es obtener la versión adaptada para su uso en España del cuestionario de Moorehead-Ardelt II, un cuestionario desarrollado para evaluar la calidad de vida de los pacientes antes y después de una Cirugía Bariátrica.

Pacientes y método:

Estudio observacional descriptivo transversal.

El proceso de adaptación consistió en cuatro fases, traducción al español de la versión original, retrotraducción, evaluación de esta versión por el Comité investigador y por los diseñadores originales del cuestionario.

Una vez consensuada la versión adaptada del cuestionario realización de otro estudio piloto en una muestra de 35 pacientes.

Resultados y conclusiones:

La adaptación transcultural ha culminado con la obtención del cuestionario de Moorehead-Ardelt II adaptado a la cultura e idioma españoles.

* * *

6. Etapas en la transición de la cirugía bariátrica abierta a laparoscópica en un servicio de cirugía general

Martín-Lorenzo JG, Torralba-Martínez JA, Lirón-Ruiz R, Bento-Gerard M, Campillo-Soto A, del Pozo-Gil de Pareja P, Aguayo-Albasini JL

Hospital General Universitario JM Morales Meseguer, Murcia.

Objetivos:

La cirugía bariátrica por laparoscopia ofrece las ventajas de las técnicas de cirugía abdominal mínimamente invasiva: menos complicaciones parietales y generales con una más pronta recuperación del paciente, sin embargo, conlleva una larga curva de aprendizaje. Presentamos el proceso de transición y puesta en marcha de la cirugía bariátrica laparoscópica en nuestro Servicio de Cirugía General.

Pacientes y métodos:

Durante el periodo 1999-2006 se han intervenido 116 pacientes por obesidad mórbida. En todos los casos se utilizó la técnica del by-pass gástrico. Dividimos el estudio en tres fases:

- 1) Abierta, entre los años 1999-2002.
- 2) Transición, año 2003, en que se realizaba laparotomía pero se utilizaban instrumentos laparoscópicos, iniciándose la laparoscopia en los 6 últimos casos.
- 3) Laparoscópica exclusivamente, años 2004-06. Se valoran: número de intervenciones, morbilidad mayor, mortalidad, estancia media.

Resultados:

- 1) Fase abierta: 26 intervenciones; morbilidad: absceso de pared en 5 casos, distress respiratorio tras bronco-aspiración en 1 caso y hemorragia digestiva en 2 casos; mortalidad 1 caso; estancia media de 9 días.
- 2) Fase de transición: 15 intervenciones (9 abiertas y 6 laparoscópicas); morbilidad: 1 seroma y 1 absceso de herida, fiebre de origen respiratorio en 1 caso; mortalidad 0 casos; estancia media de 6,4 días.
- 3) Fase laparoscópica: 75 intervenciones (18 abiertas, de ellas 4 por conversión desde laparoscopia) y 57 finalizadas por laparoscopia; morbilidad: estenosis de anastomosis gastro-yeyunal en 5 casos, hemorragia digestiva precoz en 5 casos y tardía (tras el alta) en 3; mortalidad 1 caso; estancia media de 5,7 días.

Conclusiones:

En la cirugía bariátrica es posible cambiar el abordaje abierto por el laparoscópico sin aumentar la morbi-mortalidad y manteniendo la seguridad de los pacientes. Pese a ello, parece conveniente una fase de transición antes de embarcarse por completo en un programa laparoscópico de cirugía bariátrica.

* * *

7. Complicaciones de la pared abdominal en el by-pass gástrico abierto por obesidad mórbida

Lirón Ruiz R, Torralba Martínez JA, Bento Gerard M, Martín Lorenzo JG, Moreno Egea A, Mengual Ballester M, Del Pozo Gil de Pareja P, Campillo Soto A, Muelas Martínez M, Aguayo-Albasini JL

Hospital General Universitario JM Morales Meseguer, Murcia.

Objetivo:

Gran número de complicaciones en relación con la incisión quirúrgica se le atribuyen a la cirugía bariátrica abierta. Las tasas de complicaciones de la pared abdominal no son insignificantes: 11,4% de infección leve; 4,4% infecciones graves; 20% eventraciones. Presentamos las complicaciones parietales habidas en una serie de obesos mórbidos intervenidos mediante laparotomía.

Pacientes y método:

Desde enero de 1999 a marzo de 2005 han sido intervenidos en nuestro hospital 50 pacientes afectos de obesidad mórbida realizando un by-pass gástrico, 33 mujeres y 17 varones, con una edad media de 43,6 años (rango 24-60).

El índice de masa corporal medio (IMC) fue de 47,6 (rango 40-62). El IMC era superior a 50 en 28 pacientes (superobesidad), situándose entre 40-50 en los 22 casos restantes (obesidad mórbida). Se administró profilaxis antibiótica preoperatoria con cefazolina 2 g i.v., administrando una nueva dosis de antibiótico tras la segunda hora de la cirugía. Esta profilaxis se mantuvo durante 48 horas en el postoperatorio. En los pacientes con obesidad mórbida se realizó By-pass gástrico según técnica de Sugieman modificada, y en los superobesos By-pass gástrico según técnica de Brolin modificada, asociándose colecistectomía en 6 pacientes y resección gástrica en 3. La vía de abordaje fue subcostal izquierda en todos los casos, ampliada a la derecha en 12 casos, realizando el cierre de la laparotomía con varias suturas continuas. Todos los enfermos fueron intervenidos por los dos mismos cirujanos.

Resultados:

2 pacientes desarrollaron un absceso de pared (4%), uno de ellos con celulitis asociada, 2 presentaron un seroma (4%) y un paciente tuvo una dehiscencia cutánea de la herida tras retirar los puntos de piel (2%), realizándose aproximación con sutura. Durante el seguimiento (100% de los pacientes de la serie) se han objetivado 3 eventraciones (6%), las cuales se corrigieron durante la realización de la dermolipectomía abdominal. Hubo una recidiva que fue nuevamente reparada. En esta serie no ha habido mortalidad.

Conclusión:

En referencia a la infección de herida, la correcta realización de la profilaxis antibiótica y su mantenimiento durante 48 horas, junto al cumplimiento de las básicas normas de asepsia son las claves para explicar nuestros buenos resultados.

La baja tasa de eventraciones de nuestra serie nos permite defender la realización de una incisión subcostal en lugar de una incisión media, por su tendencia a ser menos eventrógena, recordando la necesaria meticulosidad en la apertura y en el cierre de la laparotomía.

* * *

8. Cicatrización asistida por vacío de heridas abdominales

García-Marirrodiga I, Fuerte Ruiz S, Hernández Matías A, Bouzada Gil J, Limones Esteban M

Hospital Universitario de Getafe.

Objetivos:

La terapia VAC (cicatrización asistida por vacío) es una técnica nueva que estimula la cicatrización de heridas agudas y crónicas, utilizando para ello una presión negativa localizada. Describimos nuestra experiencia en la cicatrización de heridas abdominales.

Pacientes y método:

Se aplicó la terapia VAC a 9 pacientes entre junio de 2005 y marzo de 2006. Se trata de 2 mujeres y 7 hombres, con una media de edad de 52,7 años (28-73).

Resultados:

En la mayor parte de los casos se logró un cierre progresivo o se preservó la retracción de la fascia, necesaria para la subsiguiente reconstrucción de la pared abdominal (ver tabla).

Diagnóstico	Tratamiento	Sin VAC	Con VAC	Localización	Al alta
Tumor retroperitoneal	Extirpación	12 d	5 d	Herida	Cierre 2ª intención
Cáncer de colon	Colectomía total	15 d	12 d	Evisceración	Cierre 2ª intención
Obesidad mórbida	Eventroplastia	16 d	10 d	Herida	Cierre 2ª intención
Obesidad mórbida	By-pass gástrico	30 d	20 d	Herida	Cierre prim. dif.
Adenocarcinoma de páncreas	Whipple	18 d	8 d	Fístula biliar	Cierre 2ª intención
Obesidad mórbida	By-pass gástrico	15 d	7 d	Herida	Cierre prim. dif.
Pancreatitis aguda	Necrosectomía	31 d	25 d	Fístula pancreática	Cierre 2ª intención
Politraumatismo	Resección sigma	13 d	7 d	Evisceración	Cierre 2ª intención
Úlcera duodenal sangrante	Antrectomía	10 d	6 d	Eventración	Cierre 2ª intención

Conclusiones:

La técnica VAC ha contribuido a acelerar la cicatrización de las heridas, aumentando la perfusión y estimulando la formación de tejido de granulación, lo que permite un cierre primario a corto plazo o favorece una más rápida cicatrización por segunda intención. Secundariamente, ha disminuido la estancia hospitalaria y el coste económico, así como ha favorecido el mayor confort del paciente.

* * *

9. La banda gástrica ajustable por laparoscopia, un método seguro y eficaz para el tratamiento de obesidad y sus comorbilidades

Ferrer Valls JV, Royo R, Ferrando C, Fournier S, Valiente M, Santangelo G

Hospital 9 de Octubre. Valencia.

Introducción:

La banda gástrica ajustable por laparoscopia (BGAL), es una opción quirúrgica segura y eficaz para el tratamiento de la obesidad. En los últimos 10 años, han sido intervenidos mediante BGAL más de 100.000 pacientes, y en Australia se intervinieron 10.000 pacientes en el año 2005. Aunque en EE.UU. inicialmente fue poco utilizada, después de 3 ensayos clínicos monitorizados por la FDA, se está generalizando su uso en cierto tipo de pacientes.

Pacientes y métodos:

Presentamos una serie de 51 pacientes intervenidos de BGAL con un seguimiento de 12 meses. La indicación quirúrgica se realizó en pacientes con IMC > 40 o IMC > 35 con comorbilidades. El protocolo postoperatorio incluyó un seguimiento multidisciplinar. Utilizamos la técnica de la "pars flácida" y una metodología de insuflado poco agresiva y con control radioscópico.

Resultados:

De los 51 pacientes intervenidos, 11 eran varones y 40 mujeres, y con un IMC medio de 42 (35-51). El tiempo quirúrgico medio ha sido de 130 minutos. No fue necesaria ninguna reconversión ni reintervención. Los pacientes tomaron líquidos y deambulaban a las 4-6 horas de la intervención. La estancia media ha sido menor de 24 horas. No ha habido ningún fallecimiento, ni complicaciones mayores. No se han producido infecciones de heridas ni eventraciones. No se ha producido ninguna complicación sobre el depósito, ni deslizamiento gástrico, ni erosión. No se ha detectado TVP ni TEP. La media de pérdida de exceso de peso (% PEP) fue de 28,2% a los 6 meses y de 41,9% a los 12 meses. Todos los pacientes han mostrado curación de las comorbilidades asociadas o mejoría evidente con reducción de fármacos o dosis. Un paciente sufrió dilatación esofágica (IMC = 51) y otro paciente "parón persistente" después de hinchado; ambos resueltos con el deshinchado completo de la banda.

Discusión:

Una buena técnica en la orientación y fijación de la BGAL, junto a un hinchado progresivo de la banda, son esenciales para minimizar la morbilidad y optimizar su eficacia en la pérdida de peso. Obrian y cols., demostraron curaciones del

90% de la DM tipo II y del 75% en la HTA, y Vertruney y cols., un % PEP > 50% a los 7 años, en obesos tratados mediante BGAL. Un seguimiento que incluya dietistas, psicólogos, talleres y preparador físico, es determinante.

Conclusiones:

La BGAL es una intervención segura y eficaz, para el tratamiento de la obesidad y sus comorbilidades en pacientes seleccionados.

* * *

10. ¿Sleeve gastrectomy como intervención única para obesos mórbidos con imc < 42 kg/m²? resultados iniciales comparados con by-pass gástrico

Sánchez Santos R (1), Vilarrasa N (2), Gómez N (2), García Ruiz de Gordejuela A (2), González S (1), Pujol J (2), Masdevall C (2)

Complejo Hospitalario Pontevedra, Pontevedra (1); Hospital de Bellvitge, Barcelona (2).

Introducción:

La sleeve gastrectomy se está utilizando con éxito como primer tiempo quirúrgico previo a otra cirugía bariátrica definitiva en pacientes de alto riesgo, los sorprendentes resultados ponderales sugieren su eficacia como intervención única en pacientes seleccionados.

Objetivo. Evaluar los resultados iniciales de la sleeve gastrectomy como intervención única en pacientes obesos mórbidos con IMC entre 35 y 42 kg/m² comparados con el by-pass gástrico.

Pacientes y métodos:

Se comparan dos cohortes prospectivas de pacientes con IMC entre 35 y 42 kg/m² intervenidos entre enero 2002 y septiembre 2006. Al grupo 1, de 32 pacientes se realizó by-pass gástrico laparoscópico y al grupo 2, de 26 pacientes, sleeve gastrectomy laparoscópica.

Resultados:

Los dos grupos son similares en cuanto a edad, sexo, IMC y comorbilidades. Complicaciones postoperatorias: grupo 1: 2 pacientes fueron reintervenidos, uno por hemoperitoneo y otro por fístula; ningún paciente del grupo 2 fue reintervenido ($p = 0,045$) No hubo mortalidad. Estancia media: grupo 1: $4,4 \pm 3,1$ días, grupo 2: $2,9 \pm 2,15$ días ($p = 0,048$). La evolución del IMC fue la siguiente: grupo 1 (BG) IMC3 meses $31 \pm 2,4$ (% Exceso de IMC perdido: $45,7 \pm 12,9$), IMC 6 meses: $28 \pm 2,3$ (% Exceso de IMC perdido: $65,34 \pm 12,4$) Grupo 2 (SG): IMC3 meses $31,2 \pm 2,2$ (% Exceso de IMC perdido: $46 \pm 7,4$), imc 6 meses: $28,17 \pm 2,1$ (% Exceso de IMC perdido: $61,4 \pm 14,7$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a pérdida de peso entre los dos grupos.

Conclusiones:

La sleeve gastrectomy es una alternativa de bajo riesgo para los pacientes obesos mórbidos con IMC entre 35 y 42 kg/m². La pérdida de peso a corto plazo tras la sleeve gastrectomy es similar a la del by-pass gástrico. Su eficacia a largo plazo y la ampliación de sus aplicaciones deberá ser evaluada con estudios prospectivos a largo plazo.

* * *

11. By-pass gástrico de una anastomosis: resultados después de la curva de aprendizaje

García-Caballero M, Carbajo MA, Osorio D, Mínguez A, García-Lanza C

Facultad de Medicina, Málaga.

Antecedentes:

El by-pass gástrico de una anastomosis (BAGUA) es un procedimiento europeo para tratar la obesidad mórbida. Consiste en hacer un reservorio gástrico de aproximadamente 25 ml entre la unión esófago-gástrica y la pata de ganso de 1 cm de diámetro y paralelo a la curvatura menor, con anastomosis latero-lateral a un asa de yeyuno 2 m distal al ligamento de Treitz.

Objetivo:

En este estudio comparamos los resultados de los 209 primeros pacientes con los siguientes 209 (210-418).

Pacientes y métodos:

Ambos grupos son comparables respecto a la edad, IMC y exceso de peso preoperatorio, así como de la patología acompañante y número de conversiones de cirugías restrictivas previas.

Resultados:

En los primeros 209 pacientes convertimos 2 casos (0,9%) a cirugía abierta por hemorragia incontrolable. En casos reoperamos a los pacientes en el postoperatorio inmediato (1,4%). En 5 pacientes fue necesario prolongar la estancia hospitalaria por pancreatitis aguda 1 caso, 0,9%) y fuga anastomótica en 4 casos (2,3%), todos resueltos de forma conservadora. Dos muertes (0,9%): una por tromboembolismo pulmonar fulminante y otra por neumonía nosocomial. En la segunda serie de 209 pacientes (210-418) sólo hubo una perforación de la unión esófago-gástrica (0,4%) y un caso de obstrucción intestinal distal a la gastro-yeyunostomía 24 h después de la intervención. (0,4%).

Conclusiones:

Los resultados demuestran que el BAGUA es un procedimiento que consigue una importante pérdida de peso con complicaciones mínimas.

* * *

12. By-pass gástrico “medido” Hernández

Hernández Martínez J (1), Pérez Folqués JE (1), Delgado Gomis F (2), Calvo Ros MA (3)

Hospital de Yecla, Murcia (1); Hospital Peset, Valencia (2); Hospital de Basurto, Bilbao (3).

Antecedentes:

La obesidad es patología en aumento que afecta a importante cantidad de enfermos, de escaso nivel cultural y socio-económico, con imposible tratamiento conductual posterior, con graves comorbilidades (7%) en las diversas técnicas que incluye malabsorción severa, y por ende, con posterior control imposible, en una mayoría de enfermos, que pertenecen al núcleo antes comentado. Por eso, buscamos un diseño, que produciendo adelgazamiento adecuado, evitará los défi-

cits antedichos, que conocemos de forma nítida, tienen escaso control posible tras la intervención.

Métodos:

Nuestro by-pass, exige de entrada la obtención de un pouch gástrico escaso (ESENCIAL), y la definición de un asa común de aproximadamente 230 cm que es la longitud que es la longitud del intestino delgado de los enfermos no obesos; el resto del intestino se reparte, en las dos asas, biliar y alimenticia, de la Y Roux.

Al inicio, medimos ID de múltiples enfermos, con un máximo de 920 cm, sin encontrar relación entre sexo, peso y longitud intestinal. Exige este estudio, la medición en cada uno de los pacientes. Al inicio del estudio, también, estudiamos la absorción alimenticia, con una dieta preestablecida, en pre y post-operatorio de by-pass medido. Queríamos *a priori*, detectar si nuestro diseño producía alguna alteración malabsortiva. Nuestro estudio demostró que la eliminación por heces de proteínas y carbohidratos era idéntica en los operados y no operados, solo las grasas se eliminaban en los postoperados en un 500-600% más. Ello nos dio la presunción que nuestro diseño no produciría alteraciones nutricionales y solo nos faltaba comprobar si era eficaz para la pérdida de peso.

El estudio, prospectivo (conociendo los resultados previos de by-pass usual en 120 enfermos nuestros de control retrospectivo) se inicia en 2002. Aleatorizamos dos series de 75 enfermos en las que el reparto del intestino sobrante del asa común, se hace en una serie dando al asa biliar el 60% y en la otra el 60% a la alimenticia. Los resultados fueron aproximados. Este estudio fue presentado en Valladolid SECLA 2003. Desde entonces, el asa alimenticia, es mucho más larga que la biliar y se elige valorando la tracción del mesenterio.

La casuística actual del by-pass medido es de más de 460 intervenciones.

Los resultados de pérdida de peso son: 3 meses, rápido, 30-40% exceso de peso; 1 año 70-80%; 2 años 85%; 3 años Mantenido; 4 años 80%. Un solo fracaso (confitero). No hay complicaciones nutricionales.

* * *

13. By-pass gastrointestinal adaptado al IMC. Experiencia tras 9 años

Sánchez JM, Padilla J, Alonso M, Hernández M, Moneva E, Palacios MJ, Soriano A

Hospital Universitario NS de Candelaria, Santa Cruz de Tenerife.

Introducción:

El by-pass gástrico laparoscópico se ha convertido en uno de los principales procedimientos para el tratamiento de la obesidad mórbida. Sin embargo, el by-pass clásico tiene resultados limitados en los superobesos y a largo plazo. Para ello, algunos autores aumentan el asa alimentaria dependiendo del IMC inicial del paciente. Exponemos nuestro modelo de by-pass gástrico en Y de Roux adaptado al IMC que llevamos realizando los últimos 9 años.

Objetivo:

Se considera que el objetivo se cumple si hay una pérdida del exceso de peso (PEP) de 50% o más en los 5 primeros

años, con mejoría en las comorbilidades y sin déficits nutricionales importantes.

Pacientes y método:

Se intervinieron 148 pacientes entre 1997 y 2006 con un tiempo de seguimiento medio de 40,14 meses (0-110). En los últimos 5 años se llevó a cabo vía laparoscópica (116 pacientes). El 82,4% de los pacientes fueron mujeres, con una edad media de 41,59 años. El IMC preoperatorio medio fue de 48,1 y el 57,6% de los pacientes tenían algún tipo de comorbilidad.

Resultados:

La PEP media al año, a los tres años, a los cinco y a los nueve fue del 67%, 73%, 67% y 62% respectivamente. Las comorbilidades mejoraron en el 88,7% de los casos. El 27% de los pacientes presentaron anemia, el 14% hipovitaminosis y sólo el 5,4% hipoalbuminemia.

Conclusiones:

Los resultados muestran que esta técnica obtiene una excelente PEP que se mantiene a lo largo del seguimiento, con una mejoría importante de la patología asociada y sin excesivos déficits nutricionales.

* * *

14. Resultados ponderales a largo plazo del by-pass gástrico laparoscópico con banda

Cruz Vigo F (1), Cruz Vigo JL (2), Sanz de la Morena P (2), Canga Presa JM (2), Gómez Rodríguez P (1), Casanova V (1)

Hospital Universitario 12 Octubre y Clínica Ntra. Sra. del Rosario, Madrid (1). Clínica San Francisco, León (2).

Objetivos:

El criterio de éxito más importante en la valoración de las técnicas de cirugía de la obesidad es su capacidad de mantener la pérdida de peso obtenida a largo plazo, que se considera por encima de cinco años. Evaluamos nuestra experiencia con pacientes operados en este plazo.

Pacientes y métodos:

Desde junio de 1999 hasta diciembre de 2006, 800 pacientes han sido intervenidos por el mismo equipo quirúrgico, 90 de ellos antes de diciembre de 2001. Este grupo es el objeto de nuestro estudio. La edad media de los pacientes era 37 años. El peso 123,1 kg. La talla 159,7 cm. El Índice de Masa Corporal 48. El porcentaje de exceso de peso 104,3%. Ocho presentaban coledolitiasis. Dos habían sido colecistectomizadas y otras dos tenían el antecedente de una laparotomía por causa ginecológica. A todos ellos les fue realizado un by-pass gástrico con banda por vía laparoscópica, asociado a colecistectomía en aquellos con coledolitiasis.

Resultados:

La duración media de la intervención fue de 3:30 h. Una paciente fue convertida (1,1%) al observar fuga de azul de metileno al final de la intervención. Mortalidad 1 (1,1%). Complicaciones: 2 fugas anastomóticas, una hernia interna, dos hemorragias digestivas, una hemorragia intraabdominal. La estancia media ha sido 3,5 días. Seguimiento a 5 años 89%. El porcentaje de peso perdido al año ha sido el 76%, el 2º año 80%, el 3º 78%, el 4º 76% y el 5º 77%. El IMC a los

cinco años ha sido de 29, el peso perdido 47 kg y el % de exceso de IMC perdido 86%. No ha habido diferencias significativas entre obesos y superobesos.

Conclusiones:

A los cinco años de seguimiento, nuestra técnica de by-pass gástrico laparoscópico con banda confirma su reproducibilidad y seguridad, mostrando, hasta el momento, una excelente curva de pérdida de peso.

* * *

15. Expresión de óxido nítrico sintasa y dimetilarginina dimetilaminohidrolasa en esteatosis o esteatohepatitis no alcohólica en pacientes operados de obesidad mórbida

Cassinello Fernández N (1), Lluch García P (2), Ferrández Izquierdo A (1), Serna García E (3), Mauricio Aviñó MD (3), Cortina Gil B (3), Novella del Campo S (3), Medina Bessó P (3), García Torres ML (3), Ortega Serrano J (3)

Hospital Clínico Universitario. Universitat de Valencia, Valencia (1); Hospital Clínico Universitario, Valencia (2); Universitat de Valencia, Valencia (3)

Introducción:

La enzima dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) hepática es la principal vía de degradación de la dimetilarginina asimétrica (ADMA), potente inhibidor de la óxido nítrico sintasa (NOS). DDAH y NOS participan en la regulación del tono vascular intrahepático aumentando la formación de NO en el endotelio sinusoidal, produciendo por tanto, vasodilatación local. La esteatosis o esteatohepatitis no alcohólica asociadas a obesidad mórbida podrían alterar la expresión de estas enzimas en tejido hepático.

Pacientes y métodos:

Se determinó mediante PCR en tiempo real cuantitativa (QRT-PCR) la expresión génica de las enzimas DDAH (tipos I y II) y NOS (endotelial [eNOS]) en tejido hepático procedente de biopsias de 12 pacientes sometidos a by-pass gástrico (IMC medio: 45.9). Se analizó el grado de esteatosis/esteatohepatitis según la escala de Brunt modificada, resultando un grupo de 8 pacientes con esteatosis y otro grupo de 4 pacientes con esteatohepatitis (ninguno con cirrosis). Los controles se obtuvieron de 4 muestras de tejido hepático procedentes de pacientes no obesos sometidos a cirugía hepática sin hepatopatía previa. Para la comparación entre estos grupos se utilizó el ratio entre los niveles de mRNA de los diferentes genes y el mRNA de GAPDH (gen de referencia).

Resultados:

En biopsias hepáticas de pacientes con esteatosis no se modificó significativamente la expresión de eNOS comparados con el grupo control. En la esteatohepatitis se observó un incremento significativo de la expresión de eNOS ($340 \pm 50\%$). La expresión hepática de DDAH-I en pacientes con esteatosis se incrementó significativamente ($240 \pm 28\%$, $p < 0,05$) comparado con el grupo control. La esteatohepatitis indujo un mayor incremento de la expresión de DDAH-I tanto comparado con el grupo control ($390 \pm 35\%$, $p < 0,01$) como con el grupo de esteatosis ($150 \pm 30\%$, $p < 0,05$). La expresión de DDAH-II no se alteró por la esteatosis o la esteatohepatitis.

Conclusiones:

La esteatosis induce un incremento en la expresión de DDAH-I sin cambios en la expresión de eNOS. Este efecto podría aumentar la degradación de ADMA y disminuir sus efectos inhibidores sobre la producción de NO en el hígado, favoreciendo un mayor aporte sanguíneo local. El desarrollo de esteatohepatitis en la obesidad mórbida produce un mayor incremento en la expresión hepática de DDAH-I y en la expresión de eNOS, que en conjunto podrían ser responsables de una sobreproducción de NO en el hígado inflamado.

* * *

16. El síndrome hipoquinético y el rol del Holter metabólico motorio en la cirugía bariátrica

Murgio A (1), Fernández E (1), Arnone L (1), De Cristofaro P (2)

Instituto de Globesidad, Mar del Plata (Argentina) (1); Reggione, Abruzzo (Italy) (2).

Introducción:

En la sociedad actual, el avance tecnológico y la mecanización, ha inducido a una reducción de la actividad motoria configurando un verdadero y propio cuadro patológico el Síndrome Hipoquinético, sedentario, higiene de vida inadecuada y aumento del estrés psíco-físico, resultando una marcada astenia, hipotonía y sobrepeso. Existen diferentes esquemas terapéuticos en un Obeso Mórbido como la cirugía bariátrica si bien no es considerada definitiva como terapéutica, se hace indispensable un seguimiento de por vida para obtener una modificación del estilo de vida que nos resulta difícil de “medir”. El Holter Metabólico Motorio (ArmBand), útil en medir el gasto energético en la actividad motoria diaria, durante las 24 horas, con variables fisiológicas. Sistema validado con la calorimetría indirecta, con un nivel de concordancia mayor 90% (+/- 100-300 kcal).

Pacientes y métodos:

Incluimos 46 pacientes, 13 hombres y 33 mujeres con Obesidad Mórbida BMI > 40, con monitoreo continuo 72 horas, medimos el NAF (nivel actividad física), comparativo con el GET (gasto energético total) y el Metabolismo en reposo. Describimos diferentes niveles de NAF, Normoquinéticos NAF > 1,4, Hipoquinéticos NAF 1,4 - > 1,2 y los gravemente hipoquinéticos < 1,2 NAF.

Resultados:

En la tabla se pueden observar los hallazgos:

NAF	Varones (13)	Mujeres (33)
> 1,4	53,5%	22%
< 1,4 - > 1,2	26,5%	25%
< 1,2	20%	53%
GET	3.933 kcal/día	3.088 kcal/día
BMI	51,6 (± 6,8)	54,4 (± 6,8)
Edad	40,4 (± 12,6)	43,9 (± 12,2)

Conclusiones:

Datos del NAF en los sujetos con Obesidad Mórbida ofrecen una información sobre la gravedad de la enfermedad hipoquinética. En efecto los pacientes con NAF > 1,4 es posible un tratamiento médico de la obesidad, con un programa de físico motorio. En los otros casos la Cirugía Bariátrica es un tratamiento donde su racionalidad se sustenta también sobre el estilo de vida prequirúrgico del paciente. Los casos en que el NAF < 1,2 la cirugía bariátrica es de elección.

* * *

17. Indicaciones y aspectos técnicos de la gastrectomía tubular laparoscópica (vídeo)

Blanco S, Hernández M, Morandera A, Sabench F, Sánchez Pérez J, Sánchez Marín A, Buils F, Doménech J, Del Castillo D

Hospital Universitario de San Juan de Reus, Tarragona.

Objetivos:

La “sleeve gastrectomy” o gastrectomía tubular, se desarrolló inicialmente como primer paso en la realización del “switch duodenal”, y algunos grupos lo realizan como primer tiempo en pacientes super-super-obesos, donde se espera una pérdida de peso inicial considerable, para realizar al cabo de unos 12 meses el segundo tiempo como by-pass biliopancreático. Asimismo, se ha observado que la “sleeve gastrectomy” como único procedimiento puede ser suficiente en un gran número de pacientes obesos mórbidos. Proponemos esta técnica en la obesidad mórbida triple (IMC > 60 kg/m²) y en la retirada de la banda ajustable. Dicha técnica es reproducible por vía laparoscópica, teniendo en cuenta una serie de detalles técnicos.

Pacientes y métodos:

La colocación del paciente es en antiTrendelemburg de 30°, y el cirujano colocado entre las piernas. Intubación orotraqueal, mediante control por broncoscopio. Se colocan 5 trócars, en unos puntos anatómicos estratégicos. Recomendamos la óptica de 30° y la utilización de un trócar óptico para la entrada en la cavidad abdominal. La coagulación mediante la selladora (Ligasure) facilita la disección y una excelente hemostasia. Se procede siguiendo los siguientes pasos quirúrgicos:

- 1) Disección de la curvatura mayor gástrica hacia el ángulo de His, separando el ligamento gastrocólico.
- 2) Se continua la disección hasta 2-3 cm del píloro.
- 3) Sección gástrica a 3 cm del píloro con GIA de 4,8 mm, y tutorizada con una sonda de Faucher de 38 FR.
- 4) Se continua la sección gástrica con GIA 3,5 mm, comprobando la correcta posición de la sonda de Faucher, tubulizando el estómago hasta llegar al ángulo de His.
- 5) Se revisa la hemostasia, mediante puntos o aplicación de clips.
- 6) Comprobación de la estanqueidad instilando azul de metileno por la SNG.
- 7) Drenaje aspirativo tipo Jackson Pratt.
- 8) Cierre orificios de los trócares mediante visión laparoscópica.

Resultados:

Se ha realizado en 32 pacientes. La media de BMI = 61 kg/m². El curso postoperatorio fue sin incidencias en 30 pacientes. 2 se observó una fuga en la línea de grapas, que no requirió reintervención quirúrgica, cerrando a los 7 días. Un paciente tuvo que ser reintervenido por oclusión alta por vólvulo gástrico de la “sleeve gastrectomy”. No hubo mortalidad, y la estancia hospitalaria de los pacientes sin incidencias (n = 30) fue de 3 días. La pérdida media del exceso peso durante el primer año, ha sido superior al 60%, con una excelente calidad de vida.

Conclusiones:

La sleeve gastrectomy por laparoscopia es una técnica de baja morbilidad y que consigue una buena pérdida del exceso de peso. Puede ser planteada como única intervención quirúrgica, o como primer tiempo en el marco del switch duodenal.

* * *

18. Tubo gástrico laparoscópico (VÍDEC)

Bou R, Baltasar A, Bengoechea M, Serra C, Pérez N

Hospital de Alcoy y Sanatorio San Jorge, Alcoy.

Introducción:

La Gastrectomía Tubular o Tubo Gástrico (TG) es la primera parte, la restrictiva, del Cruce Duodenal una operación mixta muy efectiva para el tratamiento de la obesidad mórbida. Su realización debe ser por vía laparoscópica.

Pacientes y método:

A 422 pacientes se les ha realizado un TGL (TG laparoscópico), a 96 como terapia aislada y única de su obesidad y a otros 326 pacientes formando parte del Cruce Duodenal completo. Se usan 4 trocates de 5 mm y uno de 10 mm para la cámara. El “trocar de trabajo” de 12 mm entra bajo visión directa por hipocondrio derecho. El tubo gástrico es de menos de 60 cc en los TGL y de menos de 70 cc en los Cruce Duodenales. Se usa una sonda tutora en estómago de 12 mm de diámetro. El estómago se divide con grapas azules de tres líneas que comienzan a 1 cm de píloro. Dos suturas continuas secuenciales de la serosa cubre toda la línea de grapas que se anudan con el nudo de De Cushman.

Resultados:

No hubo lesión alguna con el trocar de entrada de visión directa. Los pacientes con TGL fueron dados de alta a las 48 horas en el 85% de los casos, 5% a las 24 horas y el resto a los 3 días. Al alta llevan un drenaje de aspiración hasta el 8.º día y toman azul de metileno oral para detectar posibles fugas. Tres pacientes con TGL sangraron, por el trocar de trabajo y uno de ellos (MC = 74) murió (1% de mortalidad).

Conclusiones:

Aún no se ha demostrado que a largo plazo el TGL sea efectivo. A corto plazo todos los pacientes superaron el 50% de porcentaje de sobrepeso perdido. Ninguno ha requerido cirugía y su calidad de vida es excelente.

* * *

19. Reintervención banding gástrico (vídeo)

Blasco Blanco M^aA, Roca Rossellini N, Pujol Gebelli J (1), Foncillas Corvinos J

Hospital Universitari Sagrat Cor. Barcelona. Hospital de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat (1).

La colocación de la Banda Gástrica es en la actualidad la técnica de elección para el tratamiento restrictivo de la Obesidad Mórbida en nuestro Centro. El objetivo de nuestro vídeo es mostrar como es posible convertir la técnica del Banding Gástrico por vía laparoscópica en un tubo gástrico (Gastric Sleeve).

Presentamos una paciente de 52 años, que 5 años antes, con un IMC inicial de 66,6, le fue colocada una Banda Gástrica, consiguiendo una pérdida máxima del 56,8% del sobrepeso. Posteriormente tuvo una reganancia de peso hasta alcanzar un IMC de 50 por lo que consultó en nuestra Unidad. Asimismo tenía un IAH de 60 (SAOS severo).

Se le practicó bajo cirugía laparoscópica una retirada de la banda gástrica y se realizó un tubo gástrico (Gastric Sleeve), destacando que no presentó complicaciones peri ni postoperatorias.

El tubo gástrico permite una pérdida de peso en muchos casos adecuada y siempre permite una opción para la conversión en un Cruce Duodenal.

* * *

20. ¿Y después del fallo de un dispositivo gástrico ajustable? que hacer (vídeo)

Masdevall Noguera C, Silvio Estaba L, Pujol Gebelli J, Moreno Llorente P, García Ruiz de Gordejuela A, Francos JM, Secanella Medayo L, Rafecas Renau A

Hospital Universitario de Bellvitge, Barcelona.

Introducción:

Al 52% de los pacientes de nuestra serie, portadores de banda neumática ajustable, colocada como tratamiento de Obesidad mórbida, ha debido ser retirada, bien por fallo del dispositivo o por ausencia de pérdida de peso suficiente para el grado de obesidad del paciente.

Descripción:

El vídeo explica la intervención quirúrgica que realizamos actualmente en el Hospital Universitario de Bellvitge, retirando el dispositivo y realizando por vía laparoscópica, una Gastroplastia tubular o un By-pass gástrico, según lo requiera el caso dependiendo del comportamiento alimentario y el peso perdido con la técnica restrictiva de la cual eran portadores.

* * *

21. By-pass gástrico “medido” Hernández (vídeo)

Hernández Martínez J, Pérez Forqués JE, Guirao Manzano J, Fernández Moreno J

Hospital de Yecla, Murcia.

Antecedentes:

La obesidad es patología en gran incremento y prevalencia, por lo que afecta a diversidad de enfermos, que a su vez pertenecen a distintas condiciones económicas, culturales, sociales etc. El tratamiento de tan diversos enfermos, a los cuatro años de nuestra experiencia, nos motivó al intento de un procedimiento quirúrgico eficaz, a ser posible para todo tipo de obesos y exento de alteraciones posoperatorias severas (vg. las complicaciones nutricionales del by-pass de asa muy larga o las derivadas de la cirugía malabsortiva). Diseñamos en 2002 el modelo, que une al pouch gástrico escaso (esencial) el dejar de asa común, la longitud de intestino que tienen las personas delgadas, excluyendo previa medición del ID, el resto del intestino que se distribuye entre las asas biliar y alimenticia. Nuestra experiencia abarca más de 400 casos, iniciada en 2002 y con resultados, publicados, excelentes.

Técnica:

Iniciamos la intervención con cuatro puertas, en el espacio infracólico. Se mide ID desde Treiz a segmentos de 5 cm, que limitamos entre dos pinzas con terminal de 2 cm. Decididas las medidas de las asas, se secciona el asa biliar y asociando el asa alimenticia, para efectuar la anastomosis Y-Y a 230 cm de la válvula ileocecal.

Después y con una nueva puerta (separador hepático) se obtiene el pouch gástrico, tras crear el reservorio desde la pequeña curvatura, previa introducción del cabezal del stapler EEA 25 mm, que introducimos al estómago por apertura del cuerpo, obteniendo un reservorio de aproximadamente 4 ó 5 cm de longitud, y base la que limita el cabezal. Anastomosis gastro-yeyunal con EEA. Sección del ID remanente. Control de estanqueidad aire bajo agua, drenaje.

* * *

22. By-pass gástrico de una anastomosis por laparoscopia (BAGUA) y soporte robótico. Experiencia sobre 600 pacientes

Carbajo MA, Ortiz J, García-Caballero M, Osorio D

Hospital Campo Grande, Valladolid. Hospital Parque San Antonio, Málaga.

Objetivos:

El BAGUA representa un simplificado tipo de BG que está ganando progresiva popularidad debido a ser más fácil en su ejecución, tener menor tasa de complicaciones y excelentes resultados en pérdida de peso y calidad de vida.

Pacientes y métodos:

Durante cerca de cinco años (2002-2006), un grupo de 600 pacientes con obesidad mórbida y super-mórbida fueron operados con un BAGUA. En los últimos 520 pacientes, la operación se realizó con la ayuda de un brazo robótico para el control óptico (Lap-Man). Las características de los pacientes fueron: Edad media 42 (14-73); género, 77% mujeres y 23% varones; IMC medio 47 (34-86); exceso de peso medio 63 (34-220).

La cirugía primaria fue realizada en 348 pacientes (60%). Cirugía abierta previa se había efectuado en 112 casos y procedimientos quirúrgicos asociados se añadieron en 114

enfermos. Conversiones de previos procedimientos restrictivos se efectuaron en 24 casos.

Resultados:

El tiempo quirúrgico medio en cirugía primaria fue de 86 minutos (60-180); en procedimientos asociados, 112 m. (95-230) y en conversiones de 175 m. (130-240). La estancia hospitalaria media en pacientes no complicados fue de 31 horas (18-86); con complicaciones mayores, 9 días (5-32). Complicaciones: Conversión a cirugía abierta, 2 casos (0,3%). Re-operaciones inmediatas, 8 pacientes (1,3%); de ellos en 4 por hemorragia, 2 por fístula, 1 por oclusión y 1 por necrosis en la cara anterior del estómago excluido. Complicaciones mayores tratadas conservadoramente en 7 casos (1,1%); de ellas en 5 por fístula, hematoma infectado en 1 y pancreatitis aguda en 1. Mortalidad en 2 pacientes (0,3%): por tromboembolismo y por neumonía nosocomial post-reintervención.

La media del % de exceso de peso perdido en un año, 72; en dos años, 79; en tres años, 80. Media de solución o mejoría en las comorbilidades, 95%.

Conclusiones:

1. El BAGUA es una segura, rápida y eficaz operación bariátrica en pacientes mórbidos o super-mórbidos.
2. El BAGUA reduce la dificultad, el tiempo operatorio y las complicaciones del BGYR Standard.
3. Las intervenciones bariátricas menos complejas tienen la oportunidad de reducir la morbi-mortalidad considerablemente después de la curva de aprendizaje.
4. Sin embargo, incluso simplificadas formas de BG como el BAGUA, pueden desarrollar graves complicaciones.
5. El brazo robótico para el control óptico reduce la fatiga visual, mental y corporal ostensiblemente. Acorta el tiempo quirúrgico, evita los constantes problemas de la óptica e incrementa la seguridad y eficacia del cirujano.

* * *

23. Estudio prospectivo randomizado entre la anastomosis manual y circular mecánica en el by-pass gástrico laparoscópico

Pujol Gebelli J, Silvio Estaba L, Masdevall Noguera C, Moreno Llorente P, Secanella Medayo L, García Ruiz de Gordejuela A, Francos JM, Rafecas A

Hospital Universitario de Bellvitge, Barcelona.

Objetivos:

Evaluar las diferencias en el By-pass Gástrico laparoscópico entre anastomosis gastro-yeyunal Manual vs Mecánica, con énfasis en sus complicaciones precoces.

Pacientes y métodos:

Estudio prospectivo randomizado controlado durante un periodo de dos años. Seleccionando a 102 pacientes con Obesidad Mórbida e índice de masa corporal (IMC) entre 35 kg/cm² (con comorbilidades) y 50 kg/cm². Randomizándose en dos grupos: manual y mecánico, con 51 pacientes cada uno. Se realizó By-pass Gástrico laparoscópico; y evaluación de las complicaciones precoces definidas como aquellas que se presentan antes del día 30 posterior a la cirugía. El análisis estadístico se realizó con SPSS v14.

Resultados:

Se incluyeron 20 hombres y 82 mujeres; 4 fueron excluidos del estudio. La edad media de la muestra es de 43,8 años, peso medio de 115 kg e IMC medio de 44,6 kg/cm². No existiendo diferencias significativas entre los dos grupos. El tiempo medio de cirugía global fue de 194,7 min, con 202,9 min en el grupo manual y 186,4 min en el mecánico $p = 0,01$. Las complicaciones < 30 días post IQ representaron el 23,5%, siendo el 19,6% manual y el 27,5% mecánica $p = 0,2$, presentándose un 6,9% de necesidad de reintervención con 2% en el grupo manual y 11,6% de las mecánicas $p = 0,05$.

Conclusiones:

El by-pass gástrico laparoscópico representa el tratamiento actual estándar en la cirugía de la obesidad mórbida, pudiendo ser realizado con diversas técnicas, siendo las más utilizadas la anastomosis manual y la mecánica circular, presentando según los grupos, cifras de complicaciones que van desde el 5 al 20%; difiriendo estas en su tipo y gravedad según la técnica empleada. Según los resultados obtenidos, sería recomendable realizar anastomosis manual, debido a que cabe esperar menos complicaciones hemorrágicas susceptibles de reintervención, con la desventaja de requerir mayor entrenamiento técnico para su realización.

* * *

24. Utilización de prótesis cubiertas autoexpandibles para el tratamiento de fugas gástricas después de cruce duodenal y gastrectomía tubular

Serra Díaz C, Baltasar Torrejón A, Andreo L, Pérez Climent N, Bou Pérez R, Bengochea Cantos M

Servicio de Cirugía General. Hospital Virgen de los Lirios, Alcoy. Alicante.

Introducción:

El Cruce Duodenal (CD) es una de las técnicas más efectivas para el tratamiento de la obesidad mórbida (OM) y de sus comorbilidades, con índices de mortalidad inferiores al 1%, pero con una morbilidad del 9,4% (6,5% debido a fugas). La Gastrectomía Tubular Laparoscópica (GTL) empleada aisladamente o como primer paso del CD es una técnica emergente en el tratamiento de la OM. Presentamos nuestra experiencia en el tratamiento de las fugas gástricas con prótesis cubiertas autoexpandibles (PCAE) después de CD y GTL.

Pacientes y métodos:

La incidencia de fugas en nuestros pacientes ha sido del 6,5%. Presentamos el tratamiento de cinco pacientes con fugas gástricas en el ángulo de His después de GTL (2) y de CD (3). La colocación de las PCAE se realizó con control radioscópico y fueron retiradas endoscópicamente. En el primer caso se utilizó una prótesis no cubierta que al final necesitó la realización de una gastrectomía total. Un paciente presentó una fístula gastro-bronquial sintomática. En dos pacientes se añadió el gesto de la embolización percutánea con "microcoils" del trayecto fistuloso.

Resultados:

En todos los casos las fugas fueron excluidas con las PCAE y los pacientes fueron capaces de tolerar una dieta triturada. El paciente tratado con una prótesis no cubierta precisó la

realización de una gastrectomía total y en uno de los casos se ha conseguido un sellado completo de la fuga gástrica después de retirar la PCAE. Un paciente necesitó recolocar la PCAE debido a persistencia de la fuga tras retirar la prótesis. Actualmente tenemos a tres pacientes en espera de retirar endoscópicamente la PCAE.

Conclusiones:

Las PCAE se utilizaron inicialmente para el tratamiento de las estenosis benignas y malignas del tracto digestivo y se proponen ahora como una alternativa terapéutica para el manejo de las fugas gastrointestinales después de cirugía bariátrica. Se precisa de una mayor experiencia con estudios controlados para definir con exactitud el tiempo óptimo para la retirada de las PCAE y el papel de la embolización con "microcoils" en el manejo de estas fístulas.

* * *

25. Conversión de gastroplastia vertical anillada abierta a by-pass gástrico laparoscópico con banda (video)

Cruz Vigo JL (1), Cruz Vigo F (2), Sanz de la Morena P (1), Martínez Pueyo JI (2), Canga Presa JM (1)

Clínica San Francisco, León (1). Sanatorio Nuestra Señora del Rosario y Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid (2).

Objetivos:

Las técnicas restrictivas en cirugía de la obesidad obtienen una pérdida de peso satisfactoria en el seguimiento a corto plazo pero, tras los dos primeros años, la reganancia de peso es frecuente. Las causas son: disrupción del grapado, defectos técnicos o el paso a una alimentación aberrante.

Pacientes y métodos:

Mujer de 25 años a la que, cinco años antes, se había realizado una gastroplastia vertical tipo Eckhout con anillado metálico de 4,7 cm. Después de perder 27 kg, vuelve a ganar peso hasta alcanzar su IMC previo (41,8). El tránsito esófago-gástrico con bario muestra una bolsa gástrica grande, que incluye parte del fundus gástrico, y un estoma estrecho con un anillo metálico. Se utilizan cinco trocares para el abordaje laparoscópico. Se liberan las adherencias hepatogástricas y se realiza una bolsa seccionada por dentro del gran reservorio de la gastroplastia. Se coloca una malla de polipropileno de 6,5 cm alrededor de la bolsa y se practica una gastroyeyunostomía en Y de Roux, antecólica, antegástrica, con grapadora lineal. La longitud del asa biliopancreática es de 40 cm y la alimentaria de 100 cm. Se deja un drenaje de Penrose por encima del reservorio, hasta el espacio subfrénico izquierdo.

Resultados:

El postoperatorio transcurre sin incidencias. A las 24 h el tránsito con Gastrografía es normal, iniciándose la tolerancia a líquidos. La estancia hospitalaria es tres días. El drenaje se retira al quinto día.

Conclusiones:

La conversión laparoscópica de una gastroplastia vertical abierta a un by-pass gástrico laparoscópico es factible y segura, aunque técnicamente compleja.

* * *

26. Tratamiento simultáneo de achalasia y obesidad mórbida (vídeo)

Cruz Vigo F (1), Cruz Vigo JL (2), Sanz de la Morena P (2), Martín Rubio J (1), Gutiérrez M (1)

Nuestra Señora del Rosario Hospital y Hospital 12 de Octubre, Madrid (1). Hospital San Francisco, León (2).

Objetivos:

Es muy infrecuente la asociación de achalasia y obesidad mórbida en el mismo paciente. La bibliografía es escasa y heterogénea a la hora de resolver el problema. En el vídeo mostramos como hemos tratado esta doble patología simultáneamente.

Caso clínico:

Varón de 52 años, diagnosticado de achalasia mediante, papilla de bario, endoscopia, manometría y Ph metría esofágica, tratado sin éxito con dos dilataciones. Consulta para Cirugía. Tiene un IMC de 44,6, hipertensión, apnea del sueño, hiperglucemia y anemia, considerada secundaria a su achalasia. Se le recomienda el tratamiento quirúrgico simultáneo de las dos patologías.

Técnica:

Utilizando 6 trócares, se realiza una miotomía de Heller de 7-8 cm con control endoscópico intraoperatorio, sin añadir técnica antirreflujo. Una bolsa vertical de 10-15 cm es creada en la curvatura menor gástrica utilizando grapadoras lineales. El asa alimentaria que mide 125 cm es colocada en situación antecólica antegástrica y realizada la gastroyeyunostomía. Mediante insuflación endoscópica, se comprueba la estanqueidad de la miotomía y de la anastomosis. Se deja un drenaje aspirativo. A las 24 horas el tránsito con Gastrografía es normal y el paciente comienza con dieta líquida. Es dado de alta al tercer día postoperatorio. El cuarto día presenta fiebre y leucocitosis. Tanto el tránsito con Gastrografía como el TAC demuestran una fuga en el esfago distal. El paciente es reoperado por laparoscopia, suturando una perforación de 5 mm, dejando un drenaje en la zona y realizando una gastrostomía. Estancia hospitalaria 15 días. Seis meses tras la cirugía la deglución es completamente normal, habiendo perdido peso adecuadamente.

Conclusiones:

La infrecuente asociación entre achalasia y obesidad mórbida, debe ser tratada simultáneamente y puede ser realizada por laparoscopia. El by-pass gástrico actúa de mecanismo antirreflujo. Probablemente, la ingesta oral deba ser aplazada unos días.

* * *

27. Prevención de complicaciones en el by-pass gástrico laparoscópico (vídeo)

Cruz Vigo JL (1), Cruz Vigo F (2), Sanz de la Morena P (1), Canga Presa JM (1), Gómez Rodríguez P (2)

Clínica San Francisco, León (1). Sanatorio Nuestra Señora del Rosario y Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid (2).

Objetivo:

Mostrar en este vídeo cómo prevenir las principales complicaciones quirúrgicas relacionadas con el By-pass Gástrico laparoscópico que son la fístula, la obstrucción y la hemorragia.

Pacientes y métodos:

La fístula sigue siendo la complicación quirúrgica más temida, con una incidencia de 1%-5%, y una mortalidad por fístula que oscila entre 12%-37%. Revisamos los 5 puntos en los que se basa nuestra experiencia: sutura continua de la línea de sección vertical del reservorio, revisión del tensado de la sutura continua manual de la anastomosis gastroyeyunal, test intraoperatorio de azul de metileno, drenaje aspirativo perianastomótico y tránsito postoperatorio a las 24 horas. La obstrucción postoperatoria, sobre todo cómo hernia interna, se ha considerado casi una complicación exclusiva de la vía laparoscópica. Se muestran los tres lugares dónde puede producirse: mesocolon transversal, mesenterio y espacio de Petersen. El cambio de vía retrocólica a antecólica ha hecho desaparecer la hernia transmesocólica. La sutura del mesenterio con material irreabsorbible no ha producido ninguna hernia por ese lugar. Nosotros no cerramos el espacio de Petersen y hemos tenido 2 hernias a través de él. La incidencia de hemorragia intraluminal e intraabdominal en el By-pass Gástrico por laparoscopia oscila entre el 1% y 10%, oscilando el índice de reintervención entre el 0% y el 50%. Exponemos cómo la devascularización de la cara posterior del reservorio en la zona de la futura anastomosis, puede disminuir y minimizar la hemorragia intraluminal.

Resultados:

Con ello incidencia de fístula ha sido de 1,5% (1,2% en la línea de sección vertical y 0,3% en la anastomosis reservorio yeyunal) y mortalidad por fístula 0%. La incidencia de hernia interna en nuestra serie es del 0,8% (1,1% en vía retrocólica y 0,5% en vía antecólica). Incidencia de hemorragia 2,8%, índice de reintervención 0%.

* * *

28. Tratamiento laparoscópico de la hernia de Petersen (vídeo)

Cruz Vigo JL (1), Cruz Vigo F (2), Sanz de la Morena P (1), Canga Presa JM (1), Beteta A (2)

Hospital San Francisco, León (1). Nuestra Señora del Rosario Hospital y Hospital 12 de Octubre, Madrid (2).

Objetivo:

La hernia interna es una complicación del by-pass gástrico por laparoscopia. A veces en el postoperatorio inmediato, pero, más frecuentemente durante el seguimiento. La colocación en posición antecólica del asa en Y de Roux, ha reducido la incidencia de esta complicación, sin llegar a hacerla desaparecer.

Caso clínico:

Paciente femenina de 40 años, intervenida tres años atrás por obesidad, realizándose by-pass gástrico con banda por laparoscopia con asa en posición antecólica, transcurriendo normal el postoperatorio. Peso inicial 107 kg e IMC: 42,4. En el momento de la reintervención, peso 72 kg (IMC: 28,5). Admitida en el hospital con dolor abdominal, náusea y vómitos. Tanto la radiología simple de abdomen como el TAC abdominal no son concluyentes de patología abdominal. La persistencia del cuadro clínico y el alto índice de sospecha determinan la exploración laparoscópica.

Técnica:

Se utilizan cuatro trócares. El intestino delgado está dilatado y edematoso con cierto grado de estasis vasculares difícil identificar la causa del problema. Se explora el intestino desde la válvula ileocecal en sentido proximal, hasta conseguir extraer todo el contenido intestinal herniado por el espacio de Petersen. El estasis venoso desaparece rápidamente. El espacio de Petersen es cerrado con una sutura continua irreabsorbible. La evolución es normal siendo alta a las 24 horas.

Conclusión:

Es necesario un alto índice de sospecha para diagnosticar una hernia interna después de un by-pass gástrico por laparoscopia, no debiendo demorar la cirugía para evitar complicaciones más severas.

* * *

29. Anastomosis “en beso” para la malnutrición proteica (vídeo)

Bengochea M, Baltasar A, Bou R, Serra C, Pérez N

Hospital de Alcoy y Sanatorio San Jorge, Alcoy.

Introducción:

La malnutrición proteica (MP) es una complicación muy grave en las operaciones complejas con componente malabsortivo.

Pacientes y método:

Diez pacientes han sido diagnosticados de MP entre 842 operados por obesidad con Cruce Duodenal. Seis de ellos fueron intervenidos para corregirles dicha alteración. A cuatro pacientes se les hizo un alargamiento del Asa Común dividiendo el Asa Digestiva y subiéndola de forma término-lateral 100 cm proximales en el Asa Bilio-pancreática. A dos pacientes se les ha hecho una anastomosis latero-lateral “en beso” a 100 cm de la unión digestiva y bilio-pancreática en dos planos. Se penetra por hipocondrio izquierdo con el trocar óptico. Se utiliza otro trocar de 10 mm de trabajo y dos trocares más de 5 mm. Es muy importante identificar y marcar con clips los segmentos para mantener la alineación del intestino y evitar su rotación.

Resultados:

Se presenta en vídeo la realización de la operación. La paciente presentada fue alta a las 24 horas de la intervención y la MP se corrigió en dos meses.

Conclusión:

La MP aún siendo una grave complicación del Cruce Duodenal o de otras intervenciones mal-absortivas puede ser corregida con una simple intervención por laparoscopia. Así lo más grave de la MP es su tardío diagnóstico pero no su tratamiento.

* * *

30. By-pass gástrico con banda por laparoscopia: 800 casos.

Cruz Vigo JL (1), Cruz Vigo F (2), Sanz de la Morena P (1), Canga Presa JM (1), Martínez Pueyo JI (2), Záarate M (2)

Clínica San Francisco, León (1). Sanatorio Nuestra Señora del Rosario y Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid (2).

Objetivo:

Evaluar las complicaciones y resultados ponderales en una serie prospectiva consecutiva de by-pass gástrico con banda por laparoscopia.

Pacientes y método:

Desde junio 1999 hasta diciembre 2006, 800 pacientes han sido intervenidos con la técnica de by-pass gástrico con banda por laparoscopia, en 276 con asa en situación retrocólica-retrogástrica y en 436 con asa antecólica-antegástrica. La longitud del asa en Y de Roux fue de 150 cm en sujetos con IMC > 50 estando comprendida entre 100 y 145 cm en el resto. El IMC medio fue de 46 kg/m², siendo el 79% mujeres. Correspondían a superobesos (IMC > 50) 219 pacientes. Se detectaron 2.320 comorbilidades.

Resultados:

Tiempo operatorio 139 minutos. Conversión (0,1%). Mortalidad 1 caso (0,1%). Setenta pacientes (8,8%) han presentado alguna complicación en algún momento de su evolución, 45 (5,7%) en el postoperatorio inmediato (30 días) y el resto tardíamente. Se han considerado complicaciones mayores el 3,9% y menores el 4,9%. Las mayores corresponden a fístula 13 casos (1,8%), hernia interna 6 casos, absceso intraabdominal 3 casos, sutura de la sonda nasogástrica 1 caso, retirada de banda infectada 1 caso y un último paciente con dilatación gástrica aguda no obstructiva. Veintiuno (2,6%) debieron ser reoperados, 12 en el postoperatorio inmediato y 9 tardíamente. La complicación tardía más frecuente ha sido estenosis (1,6%), seguido por la hernia interna 4 casos (0,5%). La estancia media hospitalaria ha sido de 3,4 días. Con un seguimiento del 89% el exceso de peso perdido (EPP) ha sido de 76%, 80%, 78%, 76%, 77% a los 12, 24, 36, 48 y 60 meses respectivamente.

Conclusiones:

El by-pass gástrico con banda por laparoscopia, se ha demostrado una técnica realizable y segura, con un buen resultado de pérdida ponderal a medio-largo plazo.

* * *

31. Flujograma utilizado en una unidad de cirugía bariátrica, para el tratamiento del paciente obeso mórbido

Martín-Lorenzo JG, Lirón-Ruiz R, Torralba-Martínez JA, Bento-Gerard M, Flores-Pastor B, Campillo-Soto A, Del Pozo-Gil de Pareja P, Aguayo-Albasini JL

Hospital General Universitario JM Morales Meseguer, Murcia.

Objetivos:

Exponer las etapas del proceso “cirugía bariátrica” en nuestro hospital, detallando las diferentes tareas que se realizan en cada una de las mismas. Presentar un modelo de flujograma para la cirugía bariátrica. Valorar la repercusión de los acuerdos logrados en la gestión del proceso.

Material y métodos:

Constitución del grupo de trabajo para diseñar el modelo de flujograma, compuesto por dos cirujanos, un médico de familia, un endocrinólogo, un psiquiatra, un digestólogo, un anestesiista, un intensivista y una enfermera. Se emplearon técnicas cualitativas de análisis del proceso y estudio

bibliográfico. La repercusión se evaluó con una escala tipo Likert 1-5.

Resultados:

Los candidatos a cirugía bariátrica son enviados a la consulta de endocrinología. Si cumplen criterios de inclusión, y tras valoración por psiquiatría, se remiten a cirugía general; algunos con IMC > 55 y patología severa concomitante, se remiten a digestivo para valoración de colocación de balón intragástrico transitorio. Desde la consulta de cirugía se coordina la valoración del riesgo quirúrgico por el anestesta y, en ocasiones, con la participación de cardiología y neumología. Las tareas que desarrolla cada una de las partes actoras están acordadas y escritas: Endocrinólogo: comprobación del IMC, descartar obesidad secundaria, etc. Psiquiatra: inexistencia de psicosis, trastorno compulsivo alimentario activo, etc. Cirujano: información sobre el

procedimiento quirúrgico, aceptación de la cirugía y sus secuelas, solicitud de estudios digestivos, etc. Digestólogo: endoscopia alta previa, colocación/extracción del balón en su caso, etc. Anestesta: valoración del riesgo quirúrgico, aceptación del procedimiento anestésico, consideración de consulta con cardiología (evaluación cardíaca y ecocardiografía) y neumología (estudio del sueño); intensivista: recepción postoperatoria y cuidados del paciente al menos 24 horas. El flujograma esquematiza los diferentes pasos y tareas anteriormente descritas.

Conclusiones:

Plantearse en sí mismo la gestión de un proceso tiene valor propio. La sistematización de la secuencia del proceso “cirugía bariátrica” elimina tareas y pasos sin valor añadido, incrementa la coordinación, mejora la seguridad y consigue la satisfacción de los profesionales intervinientes.

P1. Resultados de la implementación de una guía clínica en el tratamiento de la obesidad mórbida

Vázquez Prado A (1), Montalvá Orón EM (2), Mir Labrador J (1), de Tursi Ríspoli L (1), Ismail Mahmoud A (1), Redondo Cano C (1)

Hospital General Universitario de Valencia, Valencia (1); Hospital Universitario La Fe, Valencia (2).

Objetivo:

Valorar los resultados en la cirugía de la obesidad mórbida (técnica de cruce duodenal) tras la implementación de una guía clínica.

Pacientes y métodos:

Se comparan los resultados de dos periodos diferentes, pre y post-implementación de una guía clínica, en el tratamiento quirúrgico mediante el cruce duodenal de la obesidad mórbida, valorando las características de los pacientes en ambos grupos (edad, sexo, IMC, comorbilidades, ASA) y los resultados obtenidos en cuanto a morbi-mortalidad operatoria, complicaciones a largo plazo, pérdida de peso (porcentaje de sobrepeso perdido y porcentaje de IMC perdido) y calidad de vida. Se estudia un total de 118 pacientes intervenidos mediante la técnica del cruce duodenal, entre los años 2001-2005, de los que 64 componen el grupo pre guía clínica (2001-2003) y 54 el grupo post-implementación de la guía (2004-2005).

Resultados:

No hubo variación en cuanto a la pérdida de peso, curación de las comorbilidades, trastornos metabólicos ocasionados por la malabsorción y la restricción gástrica y calidad de vida. Sin embargo se registró un descenso importante de la morbi-mortalidad postoperatoria, pasando del 7,8% de mortalidad en el grupo pre guía clínica al 0% en el grupo post-implementación y del 32,8% de morbilidad en el grupo pre al 3,7% en el grupo post.

Conclusiones:

La implementación de la guía clínica para la obesidad mórbida ha supuesto un mejor manejo y control de los pacientes, de modo que se ha obtenido una mejoría considerable en los resultados operatorios.

* * *

P2. Evolución de las comorbilidades de la obesidad mórbida tras cirugía mediante la técnica del cruce duodenal

Vázquez Prado A (1), Montalvá Orón EM (2), de Tursi Ríspoli L (1), Ismail Mahmoud A (1), Redondo Cano C (1)

Hospital General Universitario de Valencia, Valencia (1); Hospital Universitario La Fe, Valencia (2).

Objetivo:

Valorar la evolución de las comorbilidades que presentan los pacientes afectos de obesidad mórbida e intervenidos quirúrgicamente mediante la técnica del cruce duodenal.

Pacientes y métodos:

En una serie de 118 pacientes, describimos la evolución de las medidas antropométricas y las comorbilidades asociadas, a los 3, 6, 12, 24 y 36 meses postoperatorios.

Resultados:

Durante un periodo de 5 años (2001-2005), se han intervenido 118 pacientes con un peso medio de 132,3 kg, un IMC medio de 49,7 y un sobrepeso medio de 69,1 kg. Todos los pacientes han sido seguidos al menos dos años, excepto 18 intervenidos en el 2005. Un total de 104 pacientes (88,1%) presentaba alguna comorbilidad, siendo la más frecuente la HTA (48%), seguida de la alteración osteoarticular (32,7%), dislipemia (28,8%), diabetes (27,8%), SAOS (19,2%), insuficiencia venosa (16,3%) y RGE (6,7%). Un 75,9% presentó curación de sus comorbilidades, un 14,4% presentó mejoría y un 9,6% no mejoró. De los 79 pacientes con curación de su comorbilidad, a los 3 meses postoperatorios lo estaban 53 (67%), siendo en este momento el valor medio del sobrepeso perdido (% SPP) de 31 y el % de IMC perdido del 40,3%. A los 12 meses, un 78,5% de pacientes presentaron curación, siendo el % SPP de 61,6 y el % de IMC perdido de 70,4%. A los 2 años era el 89,8% de pacientes, siendo al valor medio del % de IMC perdido de 97,9%, y el % SPP de 74,8. La curación se registró en el 95% a los 3 años, siendo entonces el valor medio del % de IMC perdido de 90,5% y el % SPP de 69. Analizando cada comorbilidad, objetivamos que la HTA no mejoró en el 4% de los pacientes, un 40% curó al tercer mes, un 66% a los 6 meses, un 84% al año y un 96% a los dos años. La diabetes mejoró en el 100% de casos, con curación del 93% (50% al tercer mes). La dislipemia se normalizó en el 93% de los pacientes, el 33% lo hizo al tercer mes, el 76,6% lo hizo al año, el 83,3% a los dos años. El SAOS se normalizó en el 95% de los pacientes (45% al tercer mes). Por tanto, con una media de pérdida de 25 kg a los tres meses postoperatorios, se obtiene un 51% de curación (% de pérdida de IMC: 40,3), con una pérdida de 36 kg en 6 meses (% de pérdida de IMC: 56,7%) se obtiene una curación del 60% y con una pérdida de 45 kg en un año se obtiene una curación del 65,3% (% de pérdida de IMC: 70,4%). La pérdida mayor de peso fue a los 2 años, con un % de SPP de 74,8% y un % de IMC perdido del 90,5%, lo que se correspondió con una tasa de curación del 76%.

Conclusiones:

En nuestro estudio, la curación de la mayoría de comorbilidades empezó al tercer mes, con una pérdida de 25 kg con respecto al peso inicial, ocurriendo la mayor tasa de curación a los dos años. Existe una relación directa entre la pérdida de peso tras la cirugía bariátrica y la curación de las comorbilidades.

* * *

P3. By-pass gástrico en el tratamiento quirúrgico de la obesidad mórbida y la superobesidad: estudio comparativo

Carvajal Balaguera J, Martín García-Almenta M, Oliart Delgado de Torres S, Camuñas Segovia J, Peña Gamarra L, Fernández Isabel P, Gómez Maestro P, Prieto Sánchez A, Viso Ciudad S, Cerquella Hernández CM

Hospital Central de la Cruz Roja San José y Santa Adela, Madrid.

Introducción:

El By-pass Gástrico (BG) constituye el tratamiento quirúrgico de elección de la obesidad mórbida (IMC < 50), sin embargo existen dudas sobre su efectividad en la superobesidad (IMC > 50).

Objetivo:

El objetivo de éste trabajo es el de analizar los resultados de pérdida de peso de los primeros 52 By-pass Gástricos abiertos consecutivos de nuestra serie y comparar las pérdidas de peso en obesos mórbidos (OM) y superobesos (SO), para determinar si los pacientes superobesos pierden suficiente peso con nuestra técnica o por el contrario sería más recomendable otra técnica más malabsortiva, como recomiendan algunos autores.

Pacientes y método:

Estudio retrospectivo de los primeros 52 pacientes intervenidos de BG por vía abierta. Se comparan las pérdidas de peso de 32 pacientes con OM y 20 con SO a 60 meses de seguimiento. Los parámetros analizados son edad, sexo, talla, peso inicial, peso actual, IMC inicial, IMC actual, % del IMC perdido, % del sobrepeso perdido (%SPP), incidencia de hernia incisional, tolerancia alimentaria y alteraciones metabólicas. El componente malabsortivo asociado a los pacientes SO era una Y de Roux de 150 a 200 cm de pie de asa y en los pacientes con OM el pie de asa estaba entre 100 y 150 cm. Los resultados se comparan mediante el test estadístico del chi² para porcentajes y la U de Mann Whitney para medias numéricas.

Resultados:

Los grupos son homogéneos en cuanto a edad media, sexo y talla. En el grupo de OM el peso inicial es de 121,5 kg, IMC inicial 45, IMC actual 28,9, la pérdida media de peso a 5 años es de 48 kg; la pérdida porcentual del exceso de IMC es del 80% y la pérdida porcentual del exceso de peso es del 74,6%. En el grupo de SO el peso inicial es de 142,7 kg, IMC inicial 54,9, IMC actual 34,9, la pérdida media de peso a 5 años es de 54 kg; la pérdida porcentual del exceso de IMC es del 65,3% y la pérdida porcentual del exceso de peso es del 63,2%. Las diferencias en cuanto a resultados ponderales resultan estadísticamente significativas en los dos grupos ($P < 0,05$), sin embargo la tasa de éxitos, según el parámetro clásico de pérdida de más del 50% del exceso de peso, es superior al 90% en ambos grupos. Los resultados del estudio sobre la presencia de hernia incisional postoperatoria, tolerancia alimentaria y alteraciones metabólicas, indican que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos.

Conclusiones:

El BG es una técnica eficaz en el tratamiento quirúrgico de la obesidad tanto en el paciente con obesidad mórbida, como en el paciente con superobesidad, siempre que se apli-

que en estos últimos un mayor grado de malabsorción. No existe diferencia en la morbilidad tardía entre los grupos.

* * *

P4. Cirugía bariátrica en un servicio de cirugía general y digestivo

Rodríguez Ballester L, Martín Malagón A, Hernández Piñero Y, Alarcó Hernández A

Hospital Universitario de Canarias, Santa Cruz de Tenerife.

Objetivo:

Análisis de los resultados de nuestra experiencia inicial en cirugía bariátrica (by-pass biliopancreático de Scopinaro con respecto a la pérdida ponderal, las comorbilidades asociadas y las complicaciones derivadas de este tipo de cirugía.

Pacientes y método:

Desde el año 2000 al 2003 se han intervenido 38 pacientes en nuestro centro. La distribución por sexos fue la siguiente: 74% mujeres con una edad media de 39,9 y IMC medio de 49,86 kg/m², 26% varones con una edad media de 40 y un IMC medio de 57,58 kg/m². Las comorbilidades estudiadas fueron: Diabetes Mellitus, Hipertensión arterial y Apnea obstructiva del sueño.

Resultados:

La HTA se corrigió en el 54% de los pacientes y mejoró en un 41,6%. La DM desapareció en el 81,2% y mejoró en el 12,5% de los pacientes, la apnea del sueño se curó en el 100%. La morbilidad postoperatoria fue la siguiente: infección de la herida quirúrgica en 13,5%; dehiscencia anastomótica en un 0%; edema de boca anastomótica en 7,8%. Un paciente presentó edema agudo de pulmón y otro un ictus, ambos se recuperaron. No hubo reintervenciones en el postoperatorio inmediato y ningún paciente falleció. Las complicaciones a medio plazo fueron: 1 paciente presentó úlcera de neoboca, 1 paciente tuvo que ser reintervenido al año de la intervención por una hernia interna, no hubieron estenosis de anastomosis ni hipoproteinemias graves. A largo plazo: el 28,9% presentaron eventraciones. El principal déficit malabsortivo fue la anemia ferropénica en un 31%, déficit de vit D en un 20%, déficit de vitamina B₁₂ en el 5%, déficit de vitamina K y de ácido fólico en un 2% de los pacientes. En cuanto al número y características de las deposiciones, la media fue de 3,8 deposiciones blandas y malolientes diarias, sólo un paciente presentó diarreas persistentes.

La media de porcentaje de peso perdido fue del 55,4 % en el primer año y del 65,31% en el segundo año. El test de BA-ROS determinó unos resultados excelentes en un 10,5%, muy buenos en el 52,6%, buenos en el 34,2%, y regular en un 2,6%.

Conclusiones:

La DBP parece demostrar resultados satisfactorios en cuanto a la pérdida de peso y corrección de comorbilidades asociadas a la obesidad a medio-largo plazo, aunque debe haber un seguimiento estricto de los posibles trastornos metabólicos. El principal inconveniente es la alta tasa de eventraciones.

* * *

P5. Deslizamiento de banda gástrica en el embarazo

Romeo I, Artieda C, Yáñez C, Díaz de Liaño A, Larrañaga C, Artañona A, González Álvarez G, Pérez Omeñaca F, Ortiz H

Hospital Virgen del Camino, Pamplona.

Antecedentes:

El deslizamiento gástrico o "slippage" es una de las complicaciones más comunes en el tratamiento de la obesidad mórbida con banda gástrica ajustable. Presentamos un caso que presentó ciertas peculiaridades para el diagnóstico diferencial y el tratamiento, debido que la paciente se encontraba embarazada.

Caso clínico:

Paciente mujer de 35 años gestante de 23 semanas que ingresa en el Hospital por pérdida de conciencia, taquicardia y vómitos incoercibles. Como antecedentes presenta colocación de banda gástrica ajustable por laparoscopia 6 meses antes sin complicaciones; hacía tres semanas que se había desinflado la banda. Dos semanas antes la paciente ingreso en el Servicio de Obstetricia por cuadro de vómitos inicialmente etiquetados de hiperemesis gravídica. Al ingreso en el análisis realizado de urgencia se detectó leucocitosis con desviación izquierda, hipopotasemia, y cifras elevadas de amilasa, lipasa y transaminasas. Se practicó ecografía abdominal objetivando únicamente barro biliar. Ante la imposibilidad de realizar tránsito digestivo superior por el embarazo, se realizó una endoscopia superior (Esofagitis grado I/IV, estómago retencionista, en cuerpo gástrico en la unión con antro gástrico los pliegues confluyen no observándose el paso a antro) y una resonancia magnética (Zona de desplazamiento de la banda y obstrucción parcial gástrica). La paciente fue intervenida realizándose una laparotomía media supraumbilical, se encontró el estómago deslizado a través de la banda que fue retirada. La evolución postoperatoria de la paciente ha sido satisfactoria cediendo por completo la clínica emética y con buen desarrollo fetal.

* * *

P6. Nuestra experiencia inicial con la banda gástrica ajustable

Rodríguez Velasco G, Mendía Conde E, Peromingo Fresneda R, Priego Jiménez P, Losa Boñar N, García Teruel D, Ramiro C, Molina Villar JM, Fresneda V

Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción:

La banda gástrica ajustable es una tira de silicona con una cámara interior expandible que al cerrarse deja un anillo de unos 10 cm. Está conectada por uno de sus extremos a un tubo hueco que comunica la sección inflable de la banda con un reservorio que permitirá el ajuste percutáneo del diámetro del anillo. Su colocación es sin duda la opción técnica más sencilla dentro de la cirugía bariátrica: el estómago no se abre ni se corta ni se grapa, no existen anastomosis y no se modifica la absorción de los alimentos. La pérdida de peso es menor que con técnicas más complejas por lo que hay que seleccionar muy bien los casos.

Pacientes y métodos:

Revisión retrospectiva de los enfermos intervenidos por obesidad mórbida en nuestro hospital a los que se les colocó Banda gástrica ajustable por vía laparoscópica. Los datos recogidos son: edad, sexo, antecedentes personales, comorbilidad asociada a la obesidad, IMC, técnica quirúrgica, duración de la intervención, estancia hospitalaria, complicaciones intra y postoperatorias y seguimiento posterior.

Resultados:

Llevamos colocadas 15 bandas gástricas (8 mujeres/7 hombres) con una edad media de 38,62 años. En todos los casos se realiza la misma técnica quirúrgica con una duración media de 42 minutos. La estancia hospitalaria 48 horas. En un caso ha sido preciso retirar la banda por intolerancia.

Conclusiones:

- Es una técnica sencilla, reversible, con poco riesgo quirúrgico, con unas tasas de complicaciones sensiblemente inferiores y una menor estancia hospitalaria.
- Pese a nuestra corta experiencia creemos que pacientes muy seleccionados, que entiendan las limitaciones de la técnica, se pueden beneficiar de la banda: pacientes colaboradores, no picoteadores ni comedores de dulces mayores de 65 años, jóvenes, aquellos con IMC < 40 con comorbilidad asociada o pacientes con elevado riesgo quirúrgico.

* * *

P7. Reducción del sangrado post-quirúrgico con la utilización de seamguard en el by-pass gástrico laparoscópico

Rodríguez Velasco G, Mendía Conde E, Peromingo Fresneda R, Priego Jiménez P, Losa Boñar N, García Teruel D, Ramiro C, Molina Villar JM, Fresneda V

Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción:

El sangrado post-quirúrgico a nivel de la línea de sección gástrica es una de las principales complicaciones del By-pass gástrico laparoscópico. Existen materiales diseñados para reforzar la línea de grapado y minimizar esta complicación siendo el Seamguard® uno ellos. Es un material bioabsorbible compuesto de ácido poliglicólico y carbonato de trimetileno utilizado para el refuerzo de la línea de grapado en procedimientos quirúrgicos que requieran transección o resección de tejidos blandos (Principalmente resecciones pulmonares y cirugía bariátrica).

Pacientes y métodos:

Revisión retrospectiva de la serie de By-pass gástrico laparoscópico de nuestro hospital comparando los casos de sangrado post-quirúrgico en los pacientes en los que no se utilizó Seamguard® y en los que se reforzó la línea de sección gástrica con este material.

Resultados:

Hasta el momento actual llevamos realizados 125 By-pass gástricos por vía laparoscópica, en los 45 primeros enfermos no se utilizó Seamguard® para reforzar la línea de grapas al realizar el reservorio gástrico, a partir del caso nº 46 utilizamos siempre este material a la hora de seccionar el estóma-

go para hacer el reservorio. En los primeros 45 casos encontramos 2 casos de sangrado postquirúrgico del borde de sección gástrica que requirieron reintervención y un caso que presentó melenas sin inestabilización hemodinámica y que se controló con vigilancia en UCI y transfusión de 2 concentrados de hemáties. Desde que comenzamos a utilizar el Seamguard® no tenemos registrada ninguna complicación relacionada con el sangrado del borde de sección gástrica.

Conclusiones:

Creemos que el uso de materiales bioabsorbibles como el Seamguard® es útil para minimizar el riesgo de sangrado postquirúrgico relacionado con el uso de endograpadoras en estos enfermos.

* * *

P8. By-pass gástrico. Hemorragia gastrointestinal en el post-peritorio inmediato

Torralba-Martínez JA, Martín-Lorenzo JG, Lirón-Ruiz R, Bento-Gerard M, Miquel-Perelló JA, Campillo-Soto A, Del Pozo-Gil de Pareja P, Mengual-Ballester M, Aguayo-Albasini JL

Hospital General Universitario JM Morales Meseguer, Murcia.

Introducción:

La hemorragia digestiva en el postoperatorio inmediato de un By-pass gástrico, por obesidad mórbida, es una complicación relativamente poco frecuente pero, en algunos casos, dramática y de difícil manejo diagnóstico y terapéutico. Presentamos nuestra casuística en una serie de 116 casos de By-pass gástricos y el manejo realizado.

Pacientes y métodos:

Desde enero 1999 a diciembre 2006, hemos realizado 116 By-pass gástricos (53 por laparotomía y 63 por laparoscopia). En 7 casos se presentó una hemorragia gastrointestinal dentro de los 7 primeros días del postoperatorio. 3 eran varones y 4 mujeres, con una edad media de 44 años, 2 habían sido operados por laparotomía y 5 por laparoscopia. Se describen los 7 casos, analizando la necesidad de transfusión, su manejo diagnóstico y terapéutico, así como su posterior seguimiento.

Resultados:

En 5 casos fue preciso la transfusión sanguínea. En 4 pacientes la hemorragia se autolimitó con medidas conservadoras y en los otros 3 se realizó una gastroscopia por persistencia de la hemorragia, evidenciando en un caso un sangrado en la línea de la anastomosis gastro-yeyunal y en otro una úlcera en la anastomosis y recibiendo ambos esclerosis con adrenalina, cesando la hemorragia. En el tercer caso y en shock hipovolémico, el paciente precisó ser reoperado, realizándose la gastroscopia en el quirófano que evidenció abundante sangre en la bolsa gástrica sin ver claramente el origen del sangrado, aunque sospechándose este a nivel de la anastomosis gastro-yeyunal. Los 2 pacientes que fueron esclerosados presentaron, en su seguimiento, una estenosis de la anastomosis gastro-yeyunal que precisó dilatación endoscópica, y el paciente reintervenido presentó, a los once meses de la intervención, una HDA por una úlcera a nivel de la anastomosis gastro-yeyunal.

Conclusión:

La hemorragia digestiva precoz en los pacientes con By-pass gástrico puede ser una grave complicación, que habitualmente precisa de transfusión sanguínea, recomendándose su ingreso en la UCI para su monitorización y control. En caso de persistencia del sangrado puede ser necesaria la realización de una gastroscopia para el diagnóstico y tratamiento de la lesión, realizada por un endoscopista experto y con control de la presión de insuflación para no dañar las diferentes suturas del bolsón gástrico.

* * *

P9. Encefalopatía de Wernicke tras by-pass gástrico laparoscópico

Rodríguez Velasco G, Mendiá Conde E, Peromingo Fresneda R, Priego Jiménez P, Losa Boñar N, García Teruel D, Ramiro C, Molina Villar JM, Fresneda V

Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción:

La encefalopatía de Wernicke, secundaria al déficit de tiamina (Vitamina B₁), es una complicación infrecuente tras la cirugía bariátrica. La etiología está en relación con la combinación de hábitos alimentarios inadecuados, sobre todo tras cirugías restrictivas, y complicaciones mecánicas que dan lugar a vómitos postprandiales e intolerancia alimentaria. Cursa fundamentalmente con visión doble, ataxia, nistagmus, confusión y poli neuropatía principalmente de miembros inferiores tanto sensitiva como motora. Para evitar esta complicación se recomienda profilaxis con tiamina en pacientes con hiperemesis, pudiendo precisar, en caso de aparición de sintomatología, ingreso para tratamiento intravenoso.

Caso clínico:

Mujer de 36 años intervenida por obesidad mórbida 2 meses atrás (Peso: 86,5 kg/Talla: 1,45 cm/IMC: 41,29) realizándose By-pass gástrico laparoscópico que consulta por sensación de mareo e inestabilidad con visión borrosa de 15 días de evolución. Desde la cirugía presenta vómitos repetidos, 2-3 veces al día, con EGD y endoscopia sin evidencia de complicaciones. En la exploración destaca nistagmo horizontal, paresia de VI par craneal bilateral, amnesia de fijación y bradipsiquia. Se realizan TAC craneal, RMN, Ecodoppler de tronco supraaórticos que son normales. En la analítica se observa hipoproteinemia y déficit de Vitaminas B₁, C y E. La paciente ingresa comenzándose tratamiento IV con tiamina mejorando los mareos y la clínica ocular. Al alta los vómitos han desaparecido y persiste leve nistagmo y paresia del VI par bilateral. Continúa tratamiento ambulatorio con tiamina IM. A los seis meses se encuentra asintomática y con controles analíticos normales. Actualmente (seguimiento 3 años) el %SPP es de 90,98% y no presenta complicaciones metabólicas importantes.

Conclusiones:

1. En la mayoría de los pacientes el preparado multivitamínico prescrito tras la cirugía bariátrica es suficiente para prevenir esta complicación.
2. Debe sospecharse en pacientes con vómitos de repetición y clínica neurológica asociada.

3. El tratamiento precoz logra una recuperación funcional en 3-6 meses, que en ocasiones puede ser incompleta.

* * *

P10. Obstrucción intestinal por hernia interna tras by-pass gástrico laparoscópico

Rodríguez Velasco G, Mendía Conde E, Peromingo Fesneda R, Priego Jiménez P, Losa Boñar N, García Teruel D, Ramiro C, Molina Villar JM, Fresneda V

Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción:

La obstrucción intestinal secundaria a hernias internas es una complicación que aparece con una frecuencia del 2 al 7% tras el By-pass gástrico laparoscópico. Se producen por la herniación de un asa intestinal a nivel de la brecha abierta en el mesocolon transversal, mesenterio yeyunal o espacio de Petersen. Presentamos los 2 casos registrados en nuestra serie (125 pacientes, 1,60%).

Casos clínicos:

– Paciente 1: Mujer de 40 años con IMC de 43, se realiza by-pass gástrico vía laparoscópica subiendo asa yeyunal transmesocólica y retrogástrica. Al 5º día postoperatorio comienza con vómitos fecaloideos y distensión abdominal. En TAC abdominal se observa cuadro de obstrucción de delgado por lo que se reinterviene. Se aprecia hernia interna de asa alimentaria por orificio de mesocolon. Se reduce la hernia cerrando el defecto del mesocolon. La evolución posterior es satisfactoria.

– Paciente 2: Mujer de 24 años con IMC de 44,6 se realiza By-pass laparoscópico utilizando la misma técnica que en la enferma anterior. El postoperatorio evoluciona sin complicaciones siendo dada de alta a los 7 días.

– A los 45 días del alta reingresa por vómitos, distensión abdominal y ausencia de tránsito intestinal. En la Radiografía de abdomen hay dilatación de asas de delgado con niveles hidroaéreos. Se instaura tratamiento conservador con sueroterapia, dieta absoluta y SNG sin mejoría clínica ni radiológica por lo que se decide intervención. Se observa hernia interna por orificio de mesenterio yeyunal. Se reduce la hernia cerrando brecha mesentérica. Evoluciona sin complicaciones.

Conclusiones:

– La incidencia de esta complicación es mayor que en la técnica abierta.

– Para disminuir la aparición de esta complicación muchos grupos prefieren el ascenso del asa yeyunal antecólico y antegástrico.

– En el caso de subir el asa transmesocólica y retrogástrica, como hacemos nosotros, es fundamental cerrar los orificios de la misma forma que haríamos en la técnica abierta.

* * *

P11. Estenosis de la anastomosis gastroyeyunal en el by-pass gástrico laparoscópico

Lirón-Ruiz R, Martín-Lorenzo JG, Torralba-Martínez JA, Bento-Gerard M, Miquel-Perelló JA, Pérez-Cuadrado E, Campillo-Soto A, Del Pozo-Gil de Pareja P, Mengual-Ballester M, Aguayo-Albasini JL

Hospital General Universitario JM Morales Meseguer, Murcia

Objetivo:

La estenosis de la anastomosis gastro-yeyunal representa una complicación significativa en la cirugía bariátrica por laparoscopia, llegando a alcanzar el 15% en algunas series. Presentamos nuestra casuística en una serie de 62 pacientes y el manejo realizado.

Pacientes y métodos:

Desde enero-2004 a septiembre-2006 hemos realizado de manera consecutiva 62 by-pass gástricos por laparoscopia según técnica de Wittgrove modificada. La anastomosis gastro-yeyunal se realizó con material de autosutura tipo CEEA nº 21 termino-lateral (ILS; Ethicon) y tras comprobar la estanqueidad anastomótica se dieron dos puntos de válvula tipo Hoffmeister a cada lado de la anastomosis. En 4 casos (6,45%) se reconvirtió a laparotomía, realizándose la anastomosis de la misma manera. El seguimiento (rango de 3-35 meses), se ha realizado en 61 pacientes, pues uno falleció por trombo-embolismo pulmonar en el postoperatorio inmediato tras ser reintervenido, a las dos semanas del by-pass gástrico, por necrosis de un pequeño fragmento del remanente gástrico. En todos los pacientes con intolerancia persistente a la alimentación se realizó tránsito baritado y/o gastroscopia. Cuando se evidenció estenosis gastro-yeyunal se procedió a dilatación neumática endoscópica (recomendando dilatar la anastomosis hasta como máximo 1,5 cm).

Resultados:

En 5 casos (8,1%) se desarrolló una estenosis gastro-yeyunal, en 4 de estos casos el diagnóstico inicial fue por tránsito baritado y en 1 caso por endoscopia. Dos pacientes tenían antecedentes de hemorragia gastrointestinal tras la cirugía bariátrica, que precisaron esclerosis endoscópica de la lesión sangrante (esclerosis circunferencial a las 48 horas de la cirugía y esclerosis de puntos sangrantes). Todos los casos se resolvieron mediante dilatación endoscópica, en dos casos con dos sesiones de dilatación y el resto con una. En el seguimiento no se han detectado reestenosis.

Conclusión:

La estenosis gastro-yeyunal es consecuencia de realizar una anastomosis de pequeño calibre (con vistas a evitar así el rápido vaciamiento del bolsón gástrico), hecho también favorecido por la anastomosis circular. Clínicamente se traduce en una intolerancia oral progresiva, evidenciándose la estenosis entre el 1 y 3 mes postoperatorio. Las situaciones de esclerosis de lesiones sangrantes la favorecen, sobre todo en aquellos casos de esclerosis amplias. En aquellos casos de sospecha el tránsito baritado nos ofrece un alto rendimiento diagnóstico. La dilatación endoscópica ha resuelto, hasta la fecha, todos los casos.

* * *

P12. Abdomen agudo secundario a la necrosis parcial tardía del remanente gástrico tras by-pass gástrico laparoscópico

Lirón Ruiz R, Bento Gerard M, Torralba Martínez JA, Martín Lorenzo JG, Miquel Perelló JA, Del Pozo Gil de Pareja P, Campillo Soto A, Mengual Ballester M, Carrasco González L, Aguayo Albasini JL

Hospital General Universitario JM Morales Meseguer, Murcia.

Introducción:

En el By-pass gástrico, además del sangrado de la línea de sección gástrica o de la anastomosis gastro-yeyunal, otra complicación extraordinariamente infrecuente puede producirse en la sección gástrica, al dejar un fragmento proximal de remanente gástrico, a modo de “reloj de arena”, que puede tener tendencia a la volvulación y/o a la isquemia local.

Caso clínico:

Paciente de 34 años de edad diagnosticado de super-obesidad mórbida (IMC: 54) con comorbilidad asociada. Sentada la indicación quirúrgica, se realizó un by-pass gástrico laparoscópico según técnica de Wittgrove modificada, sin incidencias peroperatorias. El tiempo quirúrgico fue de 180 minutos. Tras su ingreso en UCI durante 24 horas, pasó a planta con una evolución postoperatoria sin incidencias, siendo alta al 4º día del postoperatorio. El paciente acude a Urgencias, 2 semanas después, por cuadro de 12 horas de evolución con dolor en hipocondrio izquierdo, irradiado al hombro y acompañado de fiebre de 38,5 °C. A la exploración física destacaba una palpación patológica en epigastrio e hipocondrio izquierdo, con leucocitosis y desviación izquierda. Se realizó TAC abdominal objetivando una colección subfrénica izquierda. El paciente ingresó con tratamiento antibiótico y para drenaje radiológico. A las 8 horas del ingreso presentó dolor abdominal difuso, taquicardia y exploración abdominal compatible con peritonitis aguda difusa, realizándose nuevo TAC que informó de líquido libre interasas y en pelvis, con persistencia de la colección subfrénica izquierda. Se realizó una laparotomía urgente, objetivándose peritonitis aguda difusa con origen en la volvulación y necrosis de un fragmento del remanente gástrico a nivel de la sección del ángulo de His. Se realizó la resección del fragmento necrosado y lavado profuso de la cavidad dejando un drenaje en el espacio subfrénico izquierdo. El paciente pasó a UCI con buena evolución clínica en las primeras 24 horas, pero al movilizarse del sillón a la cama, el paciente falleció súbitamente por un TEP masivo.

Conclusiones:

La complicación descrita, extraordinariamente infrecuente, puede presentarse tras realizar un By-pass gástrico. Pensar en dicha posibilidad, así como direccionar de forma adecuada la endo-grapadora-cortadora, con la precaución de retirar el fundus gástrico a la izquierda del paciente mientras seccionamos el estómago proximal, son las claves para evitar esta complicación. De objetivarse dicho segmento gástrico, se ha de resecar.

* * *

P13. Patología ocular secundaria a déficit de vitamina A en pacientes intervenidos de by-pass biliopancreático

Gracia Solanas JA, Elía Guedea M, Royo Dachary P, Martínez Guillén J, Martínez Díez M

Hospital Clínico Universitario de Zaragoza, Zaragoza.

Introducción:

Es bien conocido la efectividad del by-pass biliopancreático en cuanto a pérdida ponderal, y mantenimiento de dicha pérdida en el tiempo, con mejoría de comorbilidades asociadas, si bien los efectos secundarios o “indeseables” como diarreas, hipoalbuminemia, hipovitaminosis, y malnutrición son elevados y producen un deterioro de la calidad de vida del paciente intervenido. Está descrita la xerosis severa corneoconjuntival con déficit visual así como casos de ceguera nocturna o hemeralopia por déficit de vitamina A tras el by-pass biliopancreático pero puede pasar desapercibida inicialmente. En esta comunicación pretendemos analizar la incidencia de esta patología en nuestros pacientes.

Pacientes y método:

Se analiza una muestra aleatoria de pacientes intervenidos de by-pass biliopancreático desde 1995.

Resultados:

N = 70. Rango seguimiento 1 año-10 años. Un 20% de los pacientes (14/70) refieren molestias oculares desde lagrimeo hasta ceguera nocturna con niveles en el límite inferior o por debajo de la normalidad de vit A (N:0,3-0,8 mg/dl). 10% refieren hemeralopia (7/70). Xerosis conjuntival 6% (4/70). Se objetivó disminución de la agudeza visual en 1 paciente con malnutrición proteica con déficit de vit A. Los pacientes mejoraron tras administrar los suplementos vitamínicos.

Conclusiones:

La patología ocular es infrecuente tras la cirugía bariátrica pero en casos de malnutrición con hipovitaminosis severa puede conducir a endoftalmitis y la ceguera total por lo que los equipos que manejan a estos pacientes deben tener en cuenta esta patología para instaurar el tratamiento precoz oportuno.

* * *

P14. Morbilidad tras by-pass biliopancreático en dependencia de las medidas del circuito malabsorativo

Gracia Solanas JA, Elía Guedea M, Royo Dachary P, Martínez Guillén J, Martínez Díez M

Hospital Clínico Universitario de Zaragoza, Zaragoza.

Introducción:

El by-pass biliopancreático (BPBP) se ha mostrado efectiva en cuanto a pérdida ponderal, y mejoría de comorbilidades asociadas, si bien los efectos secundarios o “indeseables” como diarreas, hipoalbuminemia, hipovitaminosis, y malnutrición son elevados. En nuestro Servicio hemos modificado la técnica primitiva de Scopinaro, para intentar minimizar estos efectos.

Pacientes y métodos:

Desde 1995 hemos intervenido a 150 pacientes sometidos a BPBP Scopinaro (tramo alimentario 200 cm tramo común 50 cm), 31 sometidos BPBP Larrad (400 cm-75 cm), y 80 BPBP modificado (225 cm-75 cm).

Resultados:

Larrad: 4 hombres, 27 mujeres, 60% obesos mórbidos y 40% superobesos. Edad media de 49 años. IMC inicial 47 kg/m², 1 año 34 kg/m², 2 año 33 kg/m², 3 año 32 kg/m², 4 año 31 kg/m². % Exceso IMC Perdido (PEIMCP): 1 año 58%, 2 año 62%, 3 año 69%, 4 año 70%. Efectos indeseables: déficit hierro 32%, hipoalbuminemia 4%, nº deposiciones 2-3/día, malnutrición 0%.

By-pass biliopancreático modificado: 22 hombres, 58 mujeres, 30% obesos mórbidos y 70% superobesos. Edad media de 46 años. El IMC inicial 52,7 kg/m², 1 año 33 kg/m², 2 año 31,6 kg/m², 3 año 31,6 kg/m², 4 año 31 kg/m². Evolución del PEIMCP: 1 año 74%, 2 año 82%, 3 año 83%, 4 año 84%. Efectos indeseables: déficit hierro 40%, hipoalbuminemia 8%, nº deposiciones 2-3/día, malnutrición 0%.

Scopinaro: 53 hombres, 97 mujeres, 40% obesos mórbidos y 60% superobesos. Edad media de 39 años. El IMC inicial 52,5 kg/m², 1 año 32 kg/m², 2 año 31,2 kg/m², 3 año 31 kg/m², 4 año 30 kg/m². Evolución del PEIMCP: 1 año 79%, 2 año 86%, 3 año 87%, 4 años 90%. Efectos indeseables: déficit hierro 61%, hipoalbuminemia 15%, nº deposiciones 4/día, malnutrición 10%.

Conclusiones:

El porcentaje de pacientes que sufren importantes trastornos metabólicos y reingresos por malnutrición es elevado, lo que obliga un estrecho seguimiento de por vida. Por esto hemos modificado la técnica inicial de Scopinaro, logrando una disminución significativa de los efectos indeseables, consiguiendo reducir la malnutrición proteica a 0, manteniendo un pérdida ponderal satisfactoria.

* * *

P15. Rabdomiolisis y cirugía bariátrica

Fidalgo Pérez MI, Villanueva Eguaras MA, Fernández Escalante C, Domínguez Díez A, Olmedo F, Casanueva de la Cruz JA

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander.

Introducción:

La rabdomiolisis es una complicación poco frecuente pero grave, de los procesos quirúrgicos (1), en la que se produce daño de membrana celular con liberación de mioglobina y creatinincinasa (CK) y consiguiente nefrotoxicidad que puede evolucionar al fallo multiorgánico y muerte. La CK se ha correlacionado bien con el daño muscular, por lo que se utiliza como marcador del mismo. La incidencia de dicha complicación varía de un 1,4 a un 4,9%. Se presenta un estudio prospectivo, de 49 casos 38 mujeres y 11 varones intervenidos desde enero a diciembre de 2006 y se analizan posibles factores de riesgo, así como correlación entre CK y función renal. La incidencia global de rabdomiolisis fue de un 8,1%. Encontramos una fuerte correlación ($p < 0,001$) entre el IMC, la duración de la intervención y la elevación de CK y una correlación negativa que no llega a alcanzar significación estadísticas con la cantidad de líquidos administrados-fluidoterapia; no existe correlación con la creatinina.

Conclusiones:

La rabdomiolisis es una complicación potencial en el postoperatorio de la cirugía de la obesidad. La incidencia es más elevada en hombres y está relacionada directamente con el tiempo quirúrgico y el índice de masa corporal. Proponemos aclaramiento de creatinina como marcador de fallo renal.

* * *

P16. Obstrucción de asa biliopancreática tras realización de cruce duodenal

García Blázquez E, Cascales Sánchez P, Usero Rebollo S, Martínez Moreno A, González Masía JM, Rueda JL, Moreno Resina JM

Hospital General Universitario, Albacete.

Introducción:

El cruce duodenal constituye una técnica quirúrgica mixta (derivación biliopancreática) utilizada en el tratamiento de la obesidad mórbida. Se presentan dos casos de obstrucción del asa biliopancreática (BP) a largo plazo tras realización de cruce duodenal.

Casos clínicos:

Caso 1: mujer de 42 años, que acudió a urgencias por dolor abdominal tras intervención de cruce duodenal hace 29 meses. Refería dolor abdominal de 12 horas de evolución junto con náuseas y vómitos. A la exploración presentaba abdomen distendido y timpánico, doloroso a la palpación con defensa y peritonismo. La TC abdominal mostró asas de intestino delgado dilatadas y abundante líquido libre en cavidad peritoneal. La paciente se intervino urgente evidenciando vólvulo de intestino delgado con signos isquémicos y necrosis de aproximadamente 100 cm incluyendo asa BP, anastomosis yeyunoileal y asa común hasta 15 cm de válvula íleocecal. Se realizó resección de asa BP, de anastomosis yeyunoileal y de asa común afecta, con posterior anastomosis término-terminal de asa BP a asa común y anastomosis término-lateral de asa digestiva a asa BP a 100 cm de la válvula íleocecal. La paciente evolucionó favorablemente y fue dada de alta hospitalaria al 11º día post-operatorio. Caso 2: varón de 30 años, que acudió a urgencias por dolor abdominal tras intervención de cruce duodenal hace un año. Refería dolor abdominal de 4 días de evolución acompañado en las últimas 24 horas de náuseas y vómitos. A la exploración presentaba abdomen blando y depresible, doloroso a la palpación profunda en mesogastrio sin defensa ni signos de irritación peritoneal. La Rx de abdomen mostró asas de intestino delgado dilatadas y con niveles hidroaéreos. La TC Abdominal mostró asas de intestino delgado dilatadas y moderada cantidad de líquido libre peritoneal. El paciente ingresó y se instauró tratamiento conservador no mejorando del cuadro. Se intervino urgente evidenciando obstrucción de asa BP secundaria a brida. Se realizó sección de brida. El asa BP presentaba viabilidad por lo que no fue necesaria resección. El paciente evolucionó favorablemente y se dio de alta hospitalaria al 9º día postoperatorio.

Conclusiones:

En nuestra experiencia el cruce duodenal es una técnica efectiva para el tratamiento de la obesidad mórbida. La obstrucción del asa biliopancreática constituye una complicación infrecuente aunque posible de esta técnica. Es fundamental sospechar esta complicación de aparición tardía ante un paciente operado de obesidad mórbida que presenta un cuadro de dolor abdominal para diagnosticarla y tratarla precozmente.

* * *

P17. Efectos de la gastrectomía tubular sobre diferentes modelos experimentales de obesidad: implicaciones metabólicas y hormonales

Sabench F, Hernández M, Blanco S, Morandeira A, Doménech J, Sánchez Marín A, Del Castillo D

Hospital Universitario de Sant Joan de Reus. Facultad de Medicina. Universidad Rovira i Virgili. Reus, Tarragona.

Introducción:

Dentro de los avances en las técnicas de cirugía bariátrica, la gastrectomía tubular se ha visto potenciada gracias a los buenos resultados que a nivel ponderal demuestra. En un principio como primer tiempo del Switch duodenal y ahora más recientemente como intervención tipo para un determinado perfil de paciente afecto de obesidad mórbida. Nuevas hormonas implicadas en la ganancia de peso y el aumento de la ingesta como la grelina sintetizada en el fundus gástrico y sus efectos orexígenos, hacen que la intervención quirúrgica se convierta en el tratamiento etiológico de determinados tipos de obesidad mórbida.

Objetivo:

Determinar en qué modelo experimental de obesidad mórbida es más efectiva la gastrectomía tubular, tanto a nivel de pérdida de peso, como en la disminución de la ingesta.

Material y métodos:

Modelos experimentales: ratas Sprague-Dawley, ratas Sprague-Dawley engordadas mediante dieta de cafetería, ratas Zucker diabetic Fatty y ratas Zucker (estos dos últimos modelos corresponden a obesidad por causas genéticas, siendo el primer grupo modelo de Diabetes tipo 2). Gastrectomía tubular: Laparotomía media. Disección de la curvatura mayor. Ligadura de vasos de la curvatura mayor. Gastrectomía lineal longitudinal con exéresis del Rumen y parte de fundus gástrico (2,5 cm de longitud). Sutura continua doble. Comprobación de la estanqueidad de la cámara gástrica mediante insuflación de la misma con suero fisiológico a través sonda nasogástrica. Dieta líquida durante 72 horas.

Medición del peso y la ingesta del animal de forma diaria durante 15 días postoperatorios. Cálculo del % de exceso de peso perdido y el correspondiente para la edad del animal.

Resultados:

Técnicamente, en la gastrectomía tubular se requiere de una segunda sutura continua que incluya la primera línea, con el fin de reforzar los puntos de fuga. A nivel ponderal, los resultados han sido diferentes respecto a los cuatro modelos experimentales. La mayor pérdida de peso se ha registrado en el grupo de ratas Sprague Dawley engordadas con dieta cafetería. En cambio en los modelos de obesidad genética la respuesta ha sido más pobre, si bien las ratas con modelo de Diabetes mellitus tipo 2 consiguen una mejora sustancial de la glucemia durante la primera semana post-intervención.

Conclusiones:

A partir de estas técnicas ha derivado la monitorización de diferentes variables como el volumen de ingesta, la pérdida de peso, variaciones de la glucemia y de otras determinaciones hormonales (Grelina, Insulina, GLP-1). La gastrectomía tubular es una excelente opción para la obesidad mórbida por causas exógenas.

* * *

P18. Modelos experimentales en cirugía bariátrica: aspectos técnicos

Hernández M, Sabench F, Blanco S, Morandeira A, Cabrera A, Sánchez Pére, J, Del Castillo D

Hospital Universitario de Sant Joan de Reus. Facultad de Medicina. Universidad Rovira i Virgili. Reus, Tarragona.

Introducción:

La cirugía bariátrica se encuentra en constante evolución ya no sólo en referencia a los propios aspectos técnicos, si no también en cuanto a los cambios metabólicos que ella comporta. Los continuos avances en el conocimiento de la patogenia y alteraciones hormonales de la Obesidad mórbida implican nuevos estudios en animales de experimentación y el desarrollo de nuevas opciones técnicas.

Objetivo:

Descripción en animales de experimentación (ratas Sprague-Dawley) de 3 tipos de intervención quirúrgica. Una de carácter restrictivo (Gastroplastia), otra de componente mixto (Bypass gastroyeyunal) y en tercer lugar la transposición ileal, de carácter experimental y con importantes implicaciones hormonales (↑ GLP1).

Material y métodos:

Modelo experimental: ratas Sprague-Dawley, hembras de 300 g de peso. Gastroplastia: Laparotomía media. Disección de la curvatura mayor. Ligadura de vasos rectos. Gastrectomía lineal longitudinal con exéresis del Rumen y parte de fundus gástrico (2,5 cm de longitud). Sutura continua doble. By-pass gastroyeyunal: En Y de Roux. Laparotomía media. Creación del reservorio gástrico mediante división horizontal del 1/3 superior de la cámara gástrica. Sección yeyunal a 15 cm del ligamento de Treitz. Anastomosis gastroyeyunal en reservorio gástrico. Anastomosis término-lateral yeyuno-yeyunal. Asa de Roux de 10 cm.

Transposición Ileal: Laparotomía media. Localización de segmento ileal de 10 cm de longitud a 10 cm de fleón terminal. Ligadura de vasos de epiplón adyacente. Sección del segmento y transposición del mismo a nivel yeyunal a 2 cm distales al ligamento de Treitz en dirección peristáltica. Anastomosis término-terminales.

Resultados:

En la gastroplastia se requiere de una segunda sutura continua que incluya la primera línea, con el fin de reforzar los puntos de fuga. El by-pass y la transposición ileal implican la realización de diferentes anastomosis intestinales con la laboriosidad que un diámetro pequeño implica (0,5-1 cm). A partir de estas técnicas deriva la monitorización de diferentes variables como el volumen de ingesta, la pérdida de peso, variaciones del índice glucémico y de otras determinaciones hormonales (Grelina, Insulina, GLP-1).

* * *

P19. Obesidad mórbida, enfermedad de hígado graso no alcohólico, síndrome metabólico y cirugía bariátrica (I)

Silvestre Teruel V, Ruano Gil M, García García-Lescún MC, Aguirre Goicoa García E, Criado Gómez L, Rodríguez Piñero A, Marco Mur AL, García-Blanch G

Hospital General de Móstoles, Móstoles.

Introducción:

El sobrepeso y la obesidad incrementan el riesgo de desarrollo del hígado graso no alcohólico (NAFLD) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH). La reducción de peso por la cirugía contribuye a su desaparición, pero que a medida que transcurre el tiempo de realizada parece ser que existe ganancia de peso y reaparecen las comorbilidades.

Objetivos:

Los objetivos del presente estudio son: 1) evaluar las alteraciones de los niveles plasmáticos de amino-transferasas en pacientes diagnosticados de obesidad mórbida (OM) 2) y la posible reversibilidad de las mismas tras cirugía bariátrica.

Pacientes y métodos:

Evaluamos retrospectivamente los datos de 190 pacientes, 150 mujeres y 40 hombres OM operados en nuestro Hospital (bypass gástrico de Capella). La edad de media fue 36,5 años (rango 18,5 – 54,5). El historial clínico indica que en el 34,7% (n = 66; 52 mujeres y 14 hombres) la ecografía abdominal fue sugestiva de NAFLD o NASH. Se recogen variables antropométricas: peso, estatura, circunferencia de la cintura (CC) e IMC y bioquímicas: insulina (INS), índice HOMA, aspartato-amino-transferasa (AST) y alanina-aminotransferasa (ALT) con tiempos de seguimiento de 6, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 meses.

Resultados:

Según la definición de síndrome metabólico (SM) de la Internacional Diabetes Federation (IDF), 90 pacientes (47,3%), 67 mujeres y 23 hombres eran portadores del SM. Todos los pacientes sospechosos de disfunción hepática sufrían el SM. La CC de las mujeres = 121,1 (16,5), el IMC = 48,3 (6,0), el valor del HOMA = 29,7 (9,0), el nivel de AST < 30 y el ALT = 31 (20,6) La CC de los hombres = 134,4 (12,0), IMC = 48,3 (8,5), HOMA = 47,7 (14,0), GOT < 30 y ALT = 36,2 (22,1). Tras cirugía y en los primeros 6 meses en ambos sexos descienden los valores de CC, de IMC y los niveles de AST y ALT, situación que se mantiene a los 72 meses de realizado el bypass.

Conclusiones:

La cirugía continúa siendo el método de elección para el tratamiento de OM y el descenso de sus comorbilidades. Los altos niveles de HOMA unido a los de AST y ALT sugieren que la insulinorresistencia puede ser la causa de la disfunción hepática.

* * *

P20. Obesidad mórbida, enfermedad de hígado graso no alcohólico, inflamación y cirugía bariátrica (II)

Silvestre Teruel V, Ruano Gil M, García García-Lescún MC, Aguirregoicoa García E, Criado Gómez L, Rodríguez Piñero A, Marco Mur AL, García-Blanch G

Hospital General de Móstoles, Móstoles.

Introducción:

El término hígado graso (NAFLD) engloba dos variantes de la enfermedad: esteatosis simple (acumulación de grasa) y esteatohepatitis (NASH), si la grasa se asocia a inflamación y fibrosis. La obesidad y especialmente la obesidad mórbida (OM) aumentan el riesgo de su aparición.

Objetivos:

Los objetivos del presente estudio son: 1) evaluar las alteraciones de los niveles plasmáticos de proteína C-reactiva y de otros marcadores bioquímicos de inflamación en pacientes

diagnosticados (MO) y 2) la posible reversibilidad de los mismos tras cirugía bariátrica.

Pacientes y métodos:

Evaluamos retrospectivamente los datos de 190 pacientes, 150 mujeres y 40 hombres OM operados en nuestro Hospital (bypass gástrico de Capella). La edad de media fue 36,5 años (rango 18,5-54,5). La ecografía abdominal sugiere que 66 pacientes (34,7%), 52 mujeres y 14 hombres eran portadores de NAFLD ó NASH. Se recogen variables antropométricas: peso, estatura, circunferencia de la cintura (CC) e IMC y bioquímicas: insulina (INS), índice HOMA, proteína C-reactiva (PCR), ferritina (FER), prealbúmina (PBA) y proteína ligadora de retinol (RBP), con tiempos de seguimiento de 6, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 meses.

Resultados:

Los pacientes con NAFLD ó NASH eran portadores de hipertensión arterial (HTA), hiperglucemia, dislipemia e hiperinsulinemia. En las mujeres, la CC = 121,1 (16,5), IMC = 48,3 (6,0), HOMA = 29,7 (9,0), los niveles de PCR = 0,010 (0,03), FER = 73,0 (42,0), PBA = 0,26 (0,06) y RBP = 0,037 (0,016). En los hombres, la CC = 134,4 (12,0), IMC = 48,3 (8,5), HOMA = 47,7 (6,0), PCR = 0,40 (0,08), FER = 60 (25,0), PBA = 0,28 (0,05) y RBP = 0,042 (0,08). Tras el bypass, en los primeros 6 meses descienden en ambos sexos las tasas de CC, IMC y los niveles de PCR mientras que en los niveles de FER, PBA y RBP no se observan diferencias significativas. Esta situación se mantiene a los 72 meses de realizada la cirugía.

Conclusiones:

El descenso CC, IMC, HOMA y PCR tras el bypass demuestran la eficacia de la cirugía en la lucha contra la OM, pero exceptuando los niveles de PCR, los demás marcadores bioquímicos no parecen útiles en el diagnóstico de NASH y se debe recurrir a biopsia hepática.

* * *

P21. Estudio de las deposiciones en cirugía bariátrica

Hernández Cosido L, Sánchez Rodríguez A, García Plaza A, Blanco Antona F, Montejo Mailló B, Ortega Martín Corral LE, Gómez Alonso A

Hospital Universitario, Salamanca.

Objetivo:

Presentar un análisis de la calidad y autoestima en el seguimiento postoperatorio tras la derivación bilio-pancreática modificada de Larrad, en relación con las heces y el tratamiento con Metronidazol que se realiza en nuestra unidad.

Pacientes y métodos:

Se trata de un estudio prospectivo de 47 pacientes con obesidad mórbida, en los cuales se ha realizado un estudio de las deposiciones en el que se han recogido las siguientes variables: Número, frecuencia, relación con alimento, consistencia, color, olor, productos patológicos, flatulencia, ventoseo, dolor abdominal. En los pacientes que describen olor como putrefacto o desagradable se inicia tratamiento con metronidazol a dosis de 250 mg cada 12 horas.

Resultados:

El 80% de los pacientes realizaban entre 1-2 deposiciones diarias y el 94,4% refiere alteraciones en el olor. El 55,5%

define el olor como putrefacto y el 39% como desagradable. Todos los pacientes en tto. con Metronidazol refieren mejoría importante en las cualidades de las heces.

Conclusiones:

En los pacientes intervenidos de obesidad mórbida mediante una derivación bilio-pancreática es muy frecuente la presencia de alteraciones en el olor de las heces, que altera su calidad de vida y autoestima (BAROS y BAROS modificado de Morehead-Ardelt), que mejora notablemente con el tratamiento con metronidazol.

* * *

P22. Estudio de la translocación bacteriana en pacientes intervenidos de cirugía bariátrica

Hernández Cosido L, Sánchez Rodríguez A, García Plaza A, Blanco Antona F, Montejo Maíllo B, Ortega Martín-Corral L, Gómez Alonso A

Hospital Universitario, Salamanca.

Objetivo:

La translocación bacteriana puede definirse como el paso de bacterias y productos bacterianos desde la luz intestinal a un lugar extraintestinal, por otro lado estéril. Pretendemos realizar un estudio en pacientes obesas debido a la gran importancia a este tema por su implicación en múltiples procesos.

Pacientes y métodos:

Se ha realizado un estudio prospectivo de 50 pacientes con obesidad mórbida, en los cuales al realizar la laparotomía, se ha tomado muestra del líquido peritoneal con un hisopo, para realizar un estudio microbiológico.

Resultados:

Sólo el 4% presentaban cultivo positivo. Las bacterias que se aíslan en casos donde ocurre translocación bacteriana son enterobacterias, entre los que se destacan: *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, así como otras bacterias intestinales grampositivas como *Enterococcus faecalis*.

Conclusiones:

La incidencia de translocación bacteriana observada puede ser menor que la real debido a que las técnicas clásicas de cultivo miden sólo las bacterias viables que escapan a los mecanismos normales de defensa y por la profilaxis antibiótica que usamos.

* * *

P23. Evaluación de la película lagrimal tras cinco años de intervención de obesidad mórbida

Martín García-Almenta M, López García JS, Giménez C, Carvajal Balaguera J, Oliart Delgado de Torres S, Camuñas Segovia J, Peña Gamarra L, Fernández Isabel P, Cerquella Hernández CM

Hospital Central de la Cruz Roja de Madrid.

Objetivo:

Estudiar la producción y estabilidad lagrimal en pacientes tras cinco años de intervención de Obesidad Mórbida (OM).

Pacientes y método:

Hemos realizado un estudio prospectivo en 22 ojos de 11 pacientes (11 mujeres) intervenidas hace 5 años de OM, a

los que hemos medido el test de Schirmer sin anestesia, el tiempo de ruptura lagrimal (BUT), así como la tinción con un colorante vital como la fluoresceína y rosa de Bengala. A todos los pacientes se les hizo un cuestionario de preguntas encaminado a determinar la presencia de síntomas de sequedad ocular o nictalopia antes y después de la cirugía, así como una completa exploración oftalmológica.

Resultados:

La edad media de las pacientes fue de $47,6 \pm 12,7$ años. La media del % SPP fue de 69. Sólo 1 paciente refirió haber tenido síntomas de sequedad ocular previos a la intervención, mientras que después de la intervención 1 paciente presentaba síntomas de sequedad ocular importante y 5 presentaban síntomas ocasionales de ojo seco. Previamente a la cirugía, ningún paciente refirió problemas de visión nocturna, mientras que tras la intervención 3 pacientes refirieron trastornos leves en la visión nocturna y 1 paciente refirió una nictalopia evidente. El BUT medio fue de $11,13 \pm 3,24$ sg, aunque 10 ojos (45,5%) presentaron valores patológicos inferiores a 10 sg. De igual forma, el test de Schirmer medio fue de $15,36 \pm 6,55$ mm, estando 5 ojos (23%) por debajo de los 10 mm. La alteración en estos parámetros se correlacionó con la sintomatología clínica.

Conclusiones:

Tras cinco años de intervención de OM, hemos encontrado en los pacientes una alteración tanto en la producción como, sobre todo, en la estabilidad de la película lagrimal que justifica la clínica de sequedad ocular que frecuentemente presentan estos pacientes.

* * *

P24. Valoración de los parámetros sanguíneos en la obesidad mórbida tras cirugía mediante la técnica del cruce duodenal

Vázquez Prado A (1), Montalvá Orón EM (2), De Tursi Ríspoli L (1), Ismail Mahmoud A (1), Redondo Cano C (1)

Hospital General Universitario de Valencia, Valencia (1); Hospital Universitario La Fe, Valencia (2).

Objetivo:

Valorar la evolución de los parámetros sanguíneos en los pacientes afectados de obesidad mórbida tras ser intervenidos quirúrgicamente mediante la técnica del cruce duodenal.

Pacientes y métodos:

En una serie de 118 pacientes se valora la evolución postoperatoria del hematocrito, hemoglobina, glucosa, proteínas totales, albúmina, calcio, GPT, bilirrubina, colesterol, triglicéridos, hierro, ácido fólico y vitamina B₁₂. El control se ha realizado a los 3, 6, 12, 18, 24 y anualmente. En la serie, 21 eran hombres y 97 mujeres, con una edad media de 42,6 años. El peso medio preoperatorio era de 132,3 kg con un valor medio del IMC de 49,7. El sobrepeso medio fue de 69,1 kg.

Resultados:

Al año, el %SPP era de 61,6% y el porcentaje de IMC perdido de 70,4%. A los 3 años el porcentaje de IMC perdido era de 90,5% y el %SPP era de 69%. Un 15,5% de pacientes presentaban cifras de hematocrito inferiores a los valores normales a los 12 meses. A los 36 meses no hay ningún paciente que presente valores inferiores al 35%. Un 20% de pacientes presentaron valores de la hemoglobina inferiores al valor normal a los 12 meses del estudio. A los 36 meses no existe ningún paciente con

valores inferiores a los normales. El déficit de hierro lo presentaron el 36,5% de pacientes, siendo sólo del 3,2% a los 36 meses. Existe un 35,8% de pacientes que, a los 12 meses, presentaban cifras de ácido fólico inferiores a las normales. El 7,6% presentaban a los 12 meses déficit de vitamina B₁₂. No hay pacientes deficitarios a los 24 y 36 meses. El grado de anemia y déficit de hierro, ácido fólico y vitamina B₁₂ se ha corregido con el aporte oral de los mismos. La hipoproteinemía se dio en el 7% de pacientes corrigiéndose de manera progresiva, no habiendo pacientes hipoproteínicos a los 36 meses. El déficit de calcio se dio en el 9,6% a los 12 meses. No existe ningún paciente hipocalcémico a los 36 meses. Esta normalización se ha conseguido con aporte de calcio y suplementos proteicos orales. Un 8,5% de pacientes presentaron una ligera elevación de las enzimas hepáticas (GPT) en el estudio de 12 meses, no así a los 24 y 36 meses. No hubo alteración de la bilirrubina.

Conclusiones:

Las alteraciones de los parámetros sanguíneos en el postoperatorio de la cirugía de la obesidad mórbida mediante la técnica del cruce duodenal, ocurren en menos de un tercio de los pacientes, siendo bien tolerados y corrigiéndose con el tiempo y el tratamiento suplementario, de modo que a los 24-36 meses prácticamente la totalidad de pacientes tienen sus valores sanguíneos dentro de los rangos normales.

* * *

P25. Calidad de vida en pacientes con obesidad mórbida sometidos a cirugía bariátrica mediante la técnica del cruce duodenal

Vázquez Prado A (1), Montalvá Orón EM (2), Galindo Jara P (1), De Tursi Rísoli L (1), Ismail Mahmoud A (1), Redondo Cano C (1)

Hospital General Universitario de Valencia, Valencia (1); Hospital Universitario La Fe, Valencia (2).

Objetivo:

Valorar la calidad de vida percibida por los pacientes afectados de obesidad mórbida e intervenidos quirúrgicamente mediante la técnica del cruce duodenal.

Pacientes y métodos:

En una serie de 118 pacientes intervenidos de obesidad mórbida mediante la técnica del cruce duodenal, se valora la calidad de vida que perciben los pacientes después de la intervención, siguiendo la escala de puntuación del BAROS, basada en el test de Moorehead-Ardelt, en la que se evalúa la opinión de los pacientes sobre su autoestima, actividad física, laboral, social y sexual. Para ello, se ha realizado una encuesta en la que se les pregunta sobre los aspectos comentados y se da una puntuación a las respuestas de cada apartado ("mucho peor", "peor", "igual", "mejor", "mucho mejor"). Excluimos a los 18 pacientes que no se les pasó la encuesta por no llegar al año de seguimiento. En la serie, 10 eran hombres y 90 mujeres, con una edad media de 41,8 años. El peso medio de los pacientes era de 135,6 kg, con un valor medio del IMC de 49,2. El sobrepeso medio fue de 69,1 kg.

Resultados:

Han respondido todos los pacientes, de los que 16 llevan más de 4 años de seguimiento, 36 más de 3 años, 66 más de 2 y 100 más de un año. La valoración de la autoestima no fue en ningún caso de "mucho peor" y solamente en dos casos "peor". La respuesta "igual" la dieron 18 pacientes, "mejor" 48 y 32 "mucho mejor". Las respuestas a la valoración de la actividad

física fue que en ningún caso se encontraron "mucho peor" ni "peor", "igual" lo respondieron 28 pacientes, 50 dijeron que se encontraban "mejor" y 22 respondieron que "mucho mejor". En el apartado de actividad social no había ningún paciente que respondiera "mucho peor", en 1 caso la respuesta fue "peor", 20 respondieron que "igual", 46 dijeron que era "mejor" y 33 respondieron que "mucho mejor". En cuanto a la actividad laboral, 3 pacientes respondieron que estaban "mucho peor", 4 "peor", 28 "igual", 38 "mejor" y 27 "mucho mejor". Ningún paciente respondió estar "mucho peor" en sus relaciones sexuales, 2 dijeron que estaban "peor", 36 respondieron que "igual", 40 dijeron que "mejor" y 22 que "mucho mejor".

Conclusiones:

La calidad de vida en los pacientes intervenidos de obesidad mórbida mediante la técnica del cruce duodenal, mejora de manera ostensible, de modo que un 71,6% de los pacientes consideran que su calidad de vida es mejor o mucho mejor y solamente un 2,4% consideran que están peor o mucho peor. Este porcentaje se corresponde fundamentalmente con el apartado de actividad laboral.

* * *

P26. By-pass gástrico laparoscópico: anastomosis gastroyeyunal con endograpadora lineal

Rodríguez Velasco G, Mendía Conde E, Peromingo Fresneda R, Priego Jiménez P, Losa Boñar N, García Teruel D, Ramiro C, Molina Villar JM, Fresneda V

Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción:

El By-pass gástrico laparoscópico (BGL) es una técnica derivativa utilizada en el tratamiento quirúrgico de la obesidad mórbida. Consiste en la creación de un pequeño reservorio gástrico a expensas de la curvatura menor y una reconstrucción del tránsito intestinal en Y de Roux con asas de longitudes variables en función del IMC.

En la mayoría de las series descritas en la literatura, la anastomosis gastroyeyunal se realiza con sutura circular mecánica. Presentamos una modificación técnica utilizada por nuestro grupo con buenos resultados.

Técnica quirúrgica:

1. Paso de asa alimentaria transmesocólica y retrogástrica hasta el reservorio. 2. Puntos seroseros de cara posterior de reservorio a cara posterior yeyunal para disminuir tensión en anastomosis. 3. Apertura de muñón gástrico y asa intestinal. 4. Anastomosis término-lateral mecánica con endograpadora lineal (endoGIA de carga azul). 5. Cierre del orificio con puntos sueltos de Ethibond de 3/0. 6. Comprobación de estanqueidad de anastomosis con 100 ml de suero. 7. Drenaje subhepático de forma sistemática.

Resultados:

En el momento actual llevamos realizados 125 BGL utilizando este tipo de gastroenteroanastomosis, teniendo 1 sólo caso de dehiscencia (0,80%) y ninguno de estenosis en el seguimiento posterior.

Conclusiones:

Publicaciones recientes sitúan el riesgo de dehiscencia entre el 1 y el 3%, pudiendo llegar en fases iniciales de implantación de la técnica al 5%. Vistos nuestros resultados podemos concluir que pese a no ser la técnica habitual utilizada por la mayoría de los grupos es una técnica segura.

9º CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIRUGÍA DE LA OBESIDAD

Getafe (Madrid), del 7 al 9 de marzo de 2007

ÍNDICE DE AUTORES

ESTE ÍNDICE ESTÁ CONFECCIONADO CON EL N.º DE LA PONENCIA DONDE APARECE EL AUTOR

A

Aguayo-Albasini, JL., 6, 7, 31, p8,
p11, p12
Aguirregoicoa García, E., p19, p20
Alarcó Hernández, A., p4
Alonso, M., 13
Álvarez, S., 1
Andreo L., 24
Ardelt-Gattinger, E., 5
Arnone, L., 16
Artajona, A., p5
Artieda, C., p5

B

Báguena, MJ., 1
Baliño Alberdi, T., 3
Baltasar Torrejón A., 24
Baltasar, A., 18, 29
Bengochea Cantos M., 24
Bengochea, M., 18, 29
Bento Gerard, M., 6, 7, 31, p8, p11,
p12
Beteta, A., 28
Blanco Antona, F., p21, p22
Blanco, S., 17, p17, p18
Blasco Blanco, Mª A., 19
Bou Pérez R., 24
Bou, R., 18, 29
Bouzada Gil, J., 8
Bru Piquer, S., 3
Buils, F., 17

C

Cabrera, A., p18
Calvo Ros, MA., 12
Campillo Soto, A., 6, 7, 31, p8, p11,
p12

Camuñas Segovia, J., 5, p3, p23
Canga Presa, JM., 14, 25, 27, 28, 30
Carbajo, MA., 11, 22
Carrasco González, L., p12
Carvajal Balaguera, J., p3, p23
Casanova, V., 14
Casanueva de la Cruz, JA., p15
Cascales Sánchez, P., p16
Cassinello Fernández, N., 15
Cassinello, N., 1
Catot Alemany L., 3
Cerquella Hernández, CM., 5, p3,
p23
Cortina Gil, B., 15
Criado Gómez, L., p19, p20
Cruz Vigo, F., 14, 25, 26, 27, 28, 30
Cruz Vigo, JL., 14, 25, 26, 27, 28,
30

D

De Cristofaro, P., 16
De Tursi Ríspoli, L., p1, p2, p24, p25
Del Castillo, D., 17, p17, p18
Del Pozo Gil de Pareja, P., 6, 7, 31,
p8, p11, p12
Delgado Gomis, F., 12
Díaz de Liaño, A., p5
Díez Valladares, L., 5
Doménech, J., 17, p17
Domínguez Díez, A., p15

E

Elía Guedea, M., p13, p14

F

Fernández Escalante, C., p15
Fernández Isabel, P., p3, p23

Fernández Moreno J., 21
Fernández, E., 16
Fernández, R., 1
Ferrández Izquierdo, A., 15
Ferrando, C., 9
Ferrer Valls, J.V., 9
Fidalgo Pérez, MI., p15
Flores-Pastor, B., 31
Foncillas Corvinos, J., 19
Fournier, S., 9
Francos, JM., 20, 23
Fresneda, V., 7, p6, p9, p10, p26
Fuerte Ruiz, S., 8

G

Galindo Jara, P., p25
García Blázquez, E., p16
García García-Lescún, MC., p19, p20
García Plaza, A., p21, p22
García Ruiz de Gordejuela, A., 10,
20, 23
García Sanz, M., 2
García Teruel, D., p6, p7, p9, p10,
p26
García Torres, ML., 15
García-Blanch, G., p19, p20
García-Caballero, M., 11, 22
García-Lanza, C., 11
García-Marirrodiga, I., 8
Giménez, C., p23
Gómez Alonso, A., p21, p22
Gómez Maestro, P., p3
Gómez Rodríguez, P., 14, 27
Gómez, C., 3
Gómez, N., 10
González Álvarez, G., p5
González Masía, JM., p16
González, S., 10
Gracia Solanas, JA., p13, p14
Guirao Manzano, J., 21
Gutiérrez, M., 26

H

Hernández Cosido, L., p21, p22
Hernández Martínez, J., 12, 21
Hernández Matías, A., 8
Hernández Piñero, Y., p4
Hernández, M., 13, 17, p17, p18

I

Ismail Mahmoud, A., p1, p2, p24, p25

L

Larrañaga, C., p5
Limonés Esteban, M.
Lirón Ruiz, R., 6, 31, 7, p8, p11, p12
López García, JS., p23
Losa Boñar, N., p6, p7, p9, p10, p26
Lluch García, P., 15

M

Marco Mur, AL., p19, p20
Martín García-Almenta M., 5, p3, p23
Martín Lorenzo, JG., 7, p12
Martín Malagón, A., p4
Martín Rubio, J., 26
Martín, MD., 5
Martínez Díez, M., p13, p14
Martínez Guillén, J., p13, p14
Martínez Moreno, A., p16
Martínez Pueyo, JI., 25, 30
Martín-Lorenzo, JG., 6, 31, p8, p11
Masdevall Noguera, C., 4, 10, 20, 23
Mauricio Aviñó, MD., 15
Medina Bessó, P., 15
Menchón, JM., 4
Mendía Conde, E., p6, p7, p9, p10, p26
Mengual Ballester, M., 7, p8, p11, p12
Mínguez, A., 11
Miquel Perelló, JA., p8, p11, p12
Mir Labrador, J., p1
Molina Villar, JM., p6, p7, p9, p10, p26
Moneva, E., 13
Montalvá Orón, EM., p1, p2, p24, p25
Montejo Maíllo, B., p21, p22
Morandeira, A., 17, p17, p18

Moreno Egea, A., 7
Moreno Llorente, P., 20, 23
Moreno Resina, JM., p16
Morread, MK., 5
Muelas Martínez, M., 7
Murgio, A., 16

N

Novella del Campo, S., 15

O

Oliart Delgado de Torres, S., p3, p23
Olmedo, F., p15
Ortega Martín Corral, LE., p21, p22
Ortega Serrano, J., 15
Ortega, J., 1
Ortiz, H., p5
Ortiz, J., 23
Osorio, D., 11, 22

P

Padilla, J., 13
Pagán, A., 2
Palacios, MJ., 13
Peña Gamarra, L., p3, p23
Pérez Climent N., 24
Pérez Folqués, JE., 12, 21
Pérez Omeñaca, F., p5
Pérez, N., 18, 29
Pérez-Cuadrado, E., p11
Peromingo Fresneda, R., p6, p7, p9, p10, p26
Priego Jiménez, P., p6, p7, p9, p10, p26
Prieto Sánchez, A., p3
Pujol Gebelli, J., 19, 20, 23
Pujol Rafols, C., 3
Pujol Rafols, J., 3
Pujol, J., 10

R

Rafecas Renau, A., 20
Rafecas, A., 23
Ramiro, C., p6, p7, p9, p10, p26
Redondo Cano, C., p1, p2, p24, p25
Roca Rossellini, N., 19
Rodríguez Ballester, L., p4
Rodríguez Piñero, A., p19, p20
Rodríguez Velasco, G., p6, p7, p9, p10, p26
Romeo, I., p5
Royo Dachary, P., p13, p14

Royo, R., 9
Ruano Gil, M., p19, p20
Rueda, JL., p16

S

Sabench, F., 17, p17, p18
Salinas, R., 2
Sánchez JM., 13
Sánchez Marín, A., 17, p17
Sánchez Pérez, J., 17, p18
Sánchez Pernaute, A., 5
Sánchez Rodríguez, A., p21, p22
Sánchez Santos, R., 10
Santangelo, G., 9
Sanz de la Morena, P., 14, 25, 26, 27, 28, 30
Sanz, J., 4
Secanella Medayo, L., 20, 23
Serna García, E., 15
Serra Díaz C., 24
Serra, C., 18, 29
Silvestre Teruel, V., p19, p20
Silvio Estaba, L., 20, 23
Soriano, A., 13

T

Torralba Martínez, JA., 6, 7, 31, p8, p11, p12
Torres García, A., 5

U

Usero Rebollo, S., p16

V

Valiente, M., 9
Vázquez Prado, A., p1, p2, p24, p25
Ventayol, G., 2
Vilarrasa, N., 4, 10
Villanueva Eguaras, MA., p15
Viso Ciudad, S., p3

Y

Yárnóz, C., p5

Z

Zárate, M., 30

TÍTULO OFICIAL DE MASTER EUROPEO EN NUTRICIÓN Y METABOLISMO (E-MENU) III EDICIÓN - CURSO 2007-2008

Duración: 60 ECTS (1 curso académico)
(BOE 25 de Enero de 2005)

En colaboración con:

Maastricht University - Maastricht (Países Bajos)

Karolinska Institute - Stockholm (Suecia)

E. Technische Hochschule - Zurich (Suiza)

Universidad de Navarra (España)

Université de Bordeaux (Francia)

University of Copenhagen (Dinamarca)

University of Kuopio (Finlandia)

Consorcio Sócrates: 28843-IC-1-2003-1-NL



Instituto de Ciencias de la Alimentación
Facultad de Farmacia
UNIVERSIDAD DE NAVARRA

Plazos de Admisión:

Anticipada: Hasta 30 Marzo

Ordinaria: Hasta 30 Junio

Extraordinaria: Hasta 15 Septiembre (si quedan plazas disponibles)

Dirección de contacto:

Master Europeo en Nutrición y Metabolismo - Universidad de Navarra - Edificio de Ciencias

Irunlarrea, s/n - 31008 Pamplona, Navarra (España)

Tel.: +34 948 425665 - Fax: +34 948 425649 - e-mail: e-menu@unav.es

<http://www.unav.es/e-menu>

Nutrición Humana y Dietética

Facultad de Farmacia
Universidad de Navarra

1^{as} Jornadas de Actualización

**“NUTRICIÓN, OBESIDAD
Y SÍNDROME METABÓLICO”**

para dietistas - nutricionistas
y otros graduados sanitarios



Instituto de Ciencias de la Alimentación

Pamplona, 11-12 mayo 2007

Información:

Tel.: 948 425 600. Ext. 6561

Fax: 948 425 649

www.unav.es/farmacia/

e-mail: rgarayoa@unav.es