

Fisiología gastrointestinal y nutrición

BRUNSER ■ CRUCHET ■ GOTTELAND

Fisiología gastrointestinal y nutrición

Editorial

Nestlé Chile S.A.
Av. Las Condes 11.287
Las Condes, Santiago
Teléfono: 56 2 2338 40 00
Fax: 56 2 233 80 19
www.nestle.cl

Comité Editorial

Dr. Oscar Brunser
Dra. Sylvia Cruchet
Prof. Martin Gotteland

Periodista

María Ester Avilés

Producción Gráfica

Neograph Ltda.
Diseño: Cristian Guerra.

Representante Legal

Fernando Del Solar
Presidente Ejecutivo Nestlé Chile S.A.

Publicación de distribución gratuita, destinada a Profesionales,
Universidades e Instituciones relacionadas con Salud y Nutrición.

Inscripción N° xxxxxx de fecha x de Marzo de 2013

PROPIEDAD DE NESTLÉ CHILE S.A.
Av. Las Condes 11.287 Las Condes, Santiago

Derechos reservados.
"Prohibida su reproducción total o parcial".

Editorial

Desde los orígenes de la compañía, Nestlé ha estado preocupado de entregar soluciones nutricionales a las personas en las diferentes etapas de sus vidas, de acuerdo a las necesidades de las sociedades donde opera.

Sin duda estas necesidades han cambiado en el tiempo. A fines del siglo XIX la desnutrición infantil causó estragos en Europa, y también en Chile durante varias décadas del siglo pasado. Este mal encontró solución en nuestro país gracias al esfuerzo mancomunado de la comunidad científica liderada por el Dr. Monckeberg y la industria de alimentos, por Nestlé.

Hoy, esas necesidades han cambiado. Una población cada día más longeva y un profundo cambio en los hábitos de nuestra población, han dejado de manifiesto el aumento de enfermedades como el Alzheimer, la anorexia y la osteoporosis. Son estos los desafíos que como compañía queremos combatir, mediante la innovación y el desarrollo de productos con valor agregado nutricional.

Pero no es lo único que nos convoca. El crecimiento del sobrepeso y la obesidad, enfermedades nutricionales que en último tiempo han causado gran impacto en nuestra sociedad, sigue siendo un desafío del presente.

Esta problemática se ha convertido en un tema país abarcando la agenda gubernamental, mediática y científica, pero también de asociaciones civiles y de la empresa privada. Como compañía estamos convencidos que sólo el trabajo conjunto y proactivo de los diferentes actores de la sociedad permitirán la generación de soluciones efectivas a esta enfermedad, especialmente en nuestros niños y jóvenes.

Pero aunar miradas en la búsqueda de soluciones no basta. La investigación científica es clave a la hora de combatir este flagelo.

Chile cuenta con una elite de investigadores, quienes justamente a través de su riguroso trabajo buscan compartir su conocimiento por medio de investigaciones como las presentadas en este libro. Esta publicación, liderada por los doctores Óscar Brunser, Sylvia Cruchet y Martin Gotteland, y que aborda una temática tan relevante como la relación de la nutrición con el funcionamiento del aparato digestivo, marcará sin duda un hito que podría ser pieza clave de estudio para la búsqueda de soluciones y tratamientos efectivos sobre las enfermedades antes mencionadas.

Quiero terminar transmitiendo mis sinceros agradecimiento y felicitaciones a todos los científicos que dedicaron arduas horas de trabajo para el desarrollo de este conocimiento en la materia, el que hoy se pone a disposición de las empresas, marcando nuestra ruta para la elaboración de productos con aporte nutricional y que contribuyan a una mejor calidad de vida de las personas.

Fernando del Solar
Presidente ejecutivo Nestle Chile

Prólogo

La estructura y la fisiología del tracto gastrointestinal están integradas armoniosamente para satisfacer las complejas necesidades funcionales y metabólicas del organismo, lo que resulta más evidente si se examinan algunas de sus características distintivas. Éstas incluyen una superficie mucosa de aproximadamente 400 metros cuadrados, que resulta de la presencia de las válvulas conniventes y las vellosidades intestinales, la presencia del 80% del total de los linfocitos del organismo y la secreción diaria hacia el lumen intestinal de unos 3,5 gramos de inmunoglobulina A polimérica. La digestión de los alimentos además de permitir su absorción eficiente por la vía sanguínea y linfática, resulta en la destrucción de su identidad inmunitaria.

La digestión es un proceso químico de gran magnitud ya que un ser humano promedio consume durante su vida unas 30 toneladas de alimento. A este proceso contribuyen la secreción de ácido por el estómago, las sales biliares conjugadas sintetizadas por el hígado y una variedad de enzimas altamente activas sintetizadas por el páncreas. Para que estos procesos sean posibles, el tubo digestivo moviliza además cada día unos 10 litros de agua con sus correspondientes electrolitos.

Esta intensa actividad metabólica está asociada con el veloz recambio de las células del epitelio intestinal, que se produce en aproximadamente 5 días en los adultos y que resulta en la descamación diaria al lumen de unos 350 gramos de células. Estas células descamadas liberan unos 60 – 70 gramos de proteína endógena que diluyen en el lumen intestinal a las proteínas provenientes de los alimentos; este mecanismo amortigua las fluctuaciones en la composición de la mezcla de aminoácidos y péptidos que deben enfrentar los transportadores específicos del ribete estriado de los enterocitos.

Las neuronas, elementos de la glía y sus prolongaciones en el tracto gastrointestinal, representan una masa de aproximadamente 1.000 gramos que hacen

de este conjunto el segundo componente por peso del sistema nervioso humano; por esta magnitud y por sus complejas capacidades funcionales, el tejido nervioso de la pared intestinal ha sido denominado “el segundo cerebro”. El componente endocrino del tubo digestivo comprende a lo menos 11 tipos diferentes de células, presentes en forma aislada en todos los segmentos del tracto gastrointestinal, que en conjunto pesan unos 500 gramos y producen a lo menos 20 péptidos y hormonas con efectos a distancia además de paracrinos y autocrinos. Junto con los elementos del tejido nervioso, contribuyen a regular la motilidad y los procesos de absorción y secreción. El tubo digestivo, y en especial el colon, alberga una microflora que incluye decenas de trillones de microorganismos pertenecientes a 500 o hasta 1.000 especies diferentes, que comprenden miles de cepas y cuyo genoma es aproximadamente unas 100 veces mayor que el genoma de su huésped humano. Es una paradoja que por cada célula de *Homo sapiens*, nuestro organismo albergue unas 10 células bacterianas. El peso de esta microbiota ha sido calculado en unos 1.500 gramos, lo que la convierte en el órgano con mayor masa de nuestro organismo, en el que cumple funciones de estímulo y maduración de las estructuras del tubo digestivo, de defensa, de fermentación y rescate de nutrientes no absorbidos, de síntesis de vitaminas y de desarrollo del funcionamiento del sistema nervioso autónomo, del sistema inmune y del sistema enteroendocrino. Actualmente se reconoce que la microbiota del colon también ejerce interacciones complejas con órganos distantes, tales como el sistema nervioso central.

“Fisiología gastrointestinal y nutrición” representa no sólo nuestra experiencia como investigadores, docentes y especialistas en el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Chile, sino que incluye importantes y muy valiosas contribuciones de connotados docentes e investigadores de otras instituciones nacionales y extranjeras, quienes aportan con sus conocimientos a una visión integrada de los temas presentados.

Teniendo en cuenta lo antedicho consideramos que este volumen será de utilidad para la formación de postgrado (Magíster y Doctorado) de médicos gastroenterólogos, especialistas en nutrición humana y animal, cirujanos y postgraduados en especialidades como la medicina interna, la enfermería de pacientes complejos, y los cuidados intensivos. A nivel de pregrado, el libro debería servir como fuente de conocimiento avanzado a estudiantes de las carreras de medicina, de nutrición, veterinaria, enfermería y odontología. Hemos procurado que cada uno de los capítulos tenga una profundidad y amplitud tales que satisfagan los requerimientos de estas profesiones y especialidades.

Queremos expresar nuestro profundo reconocimiento a Nestlé de Chile y a su personal directivo por el apoyo generoso y sostenido que recibimos en todo momento para planificar, realizar y concretar esta obra, así como a todos aquellos que contribuyeron de una forma u otra a que llegara a su culminación.

Dr. Oscar Brunser
Dra. Sylvia Cruchet
Prof. Martin Gotteland

Prefacio

Este libro llena un vacío existente en lo que concierne a la unidad entre la gastroenterología y la nutrición. La interacción entre estas dos disciplinas ha estado presente desde tiempos inmemorables, marcando una relación muy estrecha entre ellas. Los clásicos experimentos de William Beaumont, conocido como el padre de la fisiología gástrica, mostraron la relación existente entre la digestión de nutrientes y la secreción gástrica. En ellos, efectuados en la década de 1820 en Estados Unidos, aprovechando una herida de bala que nunca cicatrizó en el estómago de Alexandre St. Martin, Beaumont demostró la digestión de distintos alimentos por los jugos gástricos, dando así origen a un sinnúmero de investigaciones que han elucidado la interacción entre estas dos disciplinas.

Este volumen se inicia con una descripción detallada de la estructura del intestino delgado, con una visión anatómica de ella. El primer capítulo establece la tónica de excelencia en cuanto a las fotografías y gráficos, aspecto que se mantiene a través de todo el volumen. De especial interés es la descripción de las diversas células enteroendocrinas, que esclarece muchas de sus funciones. La secreción de ácido clorhídrico por las células parietales, detallada en el siguiente capítulo, describe la regulación de su secreción estomacal así como la de las proteasas gástricas. Como parte del mismo capítulo se describe la fisiopatología de la infección por *Helicobacter pylori* y su progresión hacia el cáncer gástrico.

A continuación siguen 7 capítulos dedicados a la absorción y transporte de macro y micronutrientes. Es notable la cobertura que se hace de la estructura del almidón y su digestión por las enzimas gastrointestinales y las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono. El capítulo sobre lípidos describe la digestión y absorción de los triglicéridos y, particularmente, la de los ácidos grasos y el colesterol. La sección sobre proteínas versa sobre su digestión y absorción, dedicando una parte del capítulo a los

errores congénitos de la absorción de aminoácidos y péptidos.

Tanto la sección sobre minerales como la de vitaminas, dan una completa perspectiva de la digestión y absorción de estos compuestos. Lo positivo de estos capítulos es que también dan recomendaciones prácticas sobre la solución a los problemas inherentes a estos nutrientes. Los polifenoles se ubican en un capítulo aparte junto con la vitamina C debido a la acción antioxidante de ambos compuestos, haciendo un detallado análisis de su metabolismo, absorción y efectos sistémicos.

El capítulo sobre motilidad colónica describe en detalle la fisiología de la defecación, particularmente la fisiopatología de la constipación, cuyas causas son analizadas cuidadosamente. Este capítulo enlaza muy bien con el siguiente, que versa sobre probióticos y prebióticos y sus efectos en la enterocolitis necrotizante y el síndrome de intestino irritable.

La inmunidad de la mucosa gastrointestinal es tratada en forma muy detallada en el siguiente capítulo, que está enfocado en el desarrollo fetal y neonatal incluyendo las diversas estructuras que juegan un papel en este complejo sistema y sus procesos.

El siguiente capítulo está centrado en el control de la ingesta de alimentos, que se inicia con una visión evolutiva que a continuación se amplía a la participación de los factores del sistema nervioso central y entérico. Se identifican asimismo los sistemas hormonales que gatillan el apetito y la saciedad y la importancia de los factores ambientales.

La fisiopatología de la malabsorción de nutrientes y su diagnóstico se tratan en el próximo capítulo, el cual posteriormente se centra en la enfermedad celíaca, su patología, diagnóstico y tratamiento. Se proporcionan aquí consejos prácticos que sin duda serán de utilidad para aquellos profesionales involucrados en esta patología.

Finalmente se encuentran dos capítulos dedicados a la fisiología hepática y del páncreas exo y endocrino. Se describen la anatomía y función del hígado, con especial énfasis en la producción y acción

de las sales biliares, para pasar luego a los aspectos patológicos relacionados con las enfermedades de depósito, caracterizadas como aquellas en que se produce una acumulación anormal de un metabolito en espacios intracelulares o extracelulares del hígado, incluyendo las glucogenosis, la hemocromatosis y la enfermedad de Wilson. La descripción de la estructura y función del páncreas se divide en sus fases cefálica, gástrica e intestinal. Se concluye con la descripción de las patologías inherentes de este órgano como la insuficiencia pancreática exocrina y la diabetes.

Un aspecto relevante de este libro es que busca aclarar la interacción entre la gastroenterología y la nutrición, dando una visión exhaustiva de los mecanismos involucrados en estas dos disciplinas. Es este un texto importante para gastroenterólogos y nutriólogos, que entrega un puente para comprender la combinación de los sistemas inherentes a estas dos áreas de la ciencia médica en la salud humana.

***Dr. Jaime Rozowski N.
Profesor Asociado
Escuela de Medicina
Pontificia Universidad Católica
de Chile Santiago***

Agradecimientos

A todas las personas que contribuyeron a nuestra formación como profesionales e investigadores y que además aportaron a nuestro desarrollo personal.

Al Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA) y a la Universidad de Chile por haber confiado en nosotros y habernos permitido el desarrollo de nuestras actividades académicas y profesionales.

A Nestlé Chile por apoyar este proyecto y comprender la importancia de la educación continua y la formación de profesionales en áreas vinculadas a la nutrición y salud.

Al Doctor Fernando Monckeberg por inspirar y estimular nuestro trabajo día a día.

Al Doctor Jaime Rozowski por el apoyo incondicional a nuestro trabajo y por la lectura crítica de este manuscrito.

A María José Jara, Camila Recabarren y todo el equipo Wellness de Nestlé por facilitar y estimular nuestra labor en el desarrollo de este libro.

Oscar Brunser

A Norma, mi esposa, por su comprensión y por ser el apoyo incondicional en el desarrollo de mi vida y mi trabajo. A mis hijos y nietos por su generosidad y su amor auténtico y transparente.

Sylvia Cruchet

A mis padres, por impulsarme a crecer y darme la formación y el amor para llegar a ser la mujer que soy. A mis hijos Karina y Rodrigo, por ser la razón de mi vida y una fuente de inspiración.

Martin Gotteland

A mis padres, a mis hijos, a mi pareja y a mi nieta, por estimular mi vida día a día y hacerme sentir que el esfuerzo vale la pena.

Editores

Oscar Brunser
Médico Cirujano
Profesor de Pediatría
Unidad de Gastroenterología y Laboratorio
de Ultraestructura
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA) Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago – Chile

Sylvia Cruchet
Médico Cirujano
Profesor Adjunto
Unidad de Gastroenterología
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA) Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago – Chile

Martin Gotteland Ph.D.
Profesor Titular
Laboratorio de Microbiología y Probióticos
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA) Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago - Chile

Autores

Juan Pablo Arancibia
Médico Cirujano
Instructor
Departamento de Medicina Interna
Sección de Gastroenterología y Hepatología
Hospital Clínico José Joaquín Aguirre
Universidad de Chile
Santos Dumont 999 - Independencia
Santiago – Chile

Miguel Arredondo
Doctor en Ciencias
Profesor Titular
Laboratorio de Micronutrientes
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA) Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago - Chile

Dr. Zoltán Berger Fleiszig
Profesor Asociado
Sección de Gastroenterología,
Departamento Medicina
Hospital Clínico José Joaquín Aguirre
Universidad de Chile
Santiago – Chile

Catalina Carrasco
Químico Farmacéutico,
Doctor en Ciencias, Farmacología,
Laboratorio de Microbiología y Probióticos
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA)
Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago – Chile

Carlos Defilippi
Médico Cirujano
Profesor Titular
Programa de Fisiología y Biofísica
Instituto de Ciencias Biomédicas
Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Avda. Independencia 1027
Santiago – Chile

Maricela Díaz-Sotomayor
Médico Cirujano
US Department of Agriculture
Agricultural Research Service
Children’s Nutrition Research Center and
Department of Pediatrics
Baylor College of Medicine
1100 Bates St., Houston, TX, 77030-300
Estados Unidos

Gabriela Durán
Nutricionista
Laboratorio de Micronutrientes
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA) Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago – Chile

Paul R. Harris
Médico Cirujano
Profesor Asociado
Unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica
Departamento de Pediatría
Escuela de Medicina
Pontificia Universidad Católica de Chile
Marcoleta 391
Santiago – Chile

Sandra Hirsch
Médico Cirujano, Magister en Ciencias, Nutrición
Profesor Asociado
Laboratorio de Enfermedades Crónicas
Asociadas con la Nutrición
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA) Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago – Chile

Daniel López de Romaña Ph.D.
Profesor Asociado
Laboratorio de Micronutrientes
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA) Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago – Chile

Lei Lu, M.D.
Assistant Professor of Pediatrics
Division of Neonatology
Children’s Hospital
University of Chicago
Chicago, IL 60637
Estados Unidos

Maria Luisa Mizgier
Master of Science
Laboratorio de Microbiología y Probióticos
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA) Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago – Chile

Santiago Muzzo
Médico Cirujano
Profesor Titular
Director, Dirección de Investigación
Facultad de Medicina
Universidad Diego Portales
Grajales 1746
Santiago – Chile

Buford L. Nichols
Medical Doctor, Ph.D.
Professor of Pediatrics
US Department of Agriculture
Agricultural Research Service
Children's Nutrition Research Center
and Department of Pediatrics
Baylor College of Medicine
1100 Bates St., Houston, TX, 77030-300
Estados Unidos

Manuel Olivares
Médico Cirujano
Profesor Titular
Laboratorio de Micronutrientes
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA) Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago – Chile

Fernando Pizarro
Tecnólogo Médico
Profesor Titular
Laboratorio de Micronutrientes
Instituto de Nutrición y Tecnología de los
Alimentos (INTA) Universidad de Chile
Avda. El Líbano 5524 – Macul
Santiago – Chile

Jaime Poniachik
Médico Cirujano
Profesor Titular
Departamento de Medicina Interna
Sección de Gastroenterología y Hepatología
Universidad de Chile.
Santos Dumont 999
Santiago – Chile

Roberto Quezada-Calvillo Ph.D.
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Avenida Manuel Nava 6, Zona Universitaria
78210 San Luis Potosí, México

Carolina Serrano
Licenciada en Ciencias Biológicas,
Unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica
División de Pediatría
Facultad de Medicina
Pontificia Universidad Católica
Edificio Gastroenterología
Marcoleta 367 – 3er piso
Santiago – Chile

Fernando Torrealba
Médico Cirujano
Profesor Titular
Laboratorio de Neurobiología
Departamento de Ciencias Fisiológicas
Pontificia Universidad Católica de Chile
Avda. Libertador Bernardo O'Higgins 340
Santiago – Chile

W. Allan Walker
Medical Doctor
Professor of Pediatrics
Conrad Taft Professor of Nutrition
Harvard Medical School
Director, Mucosal Immunology Laboratory
Massachusetts General Hospital for Children
114 16th Street (114-3503)
Boston, MA 02129-4404
Estados Unidos

Índice

Carta

PRESIDENTE EJECUTIVO DE NESTLE.....III
Fernando Del Solar

Prólogo

Óscar Brunser, Sylvia Cruchet
Martín Gotteland.....V

Prefacio

Jaime Rozowski N.....VII

Agradecimientos.....IX

Editores / Autores.....XI

Capítulo 1

ESTRUCTURA DEL INTESTINO DELGADO.....1
Oscar Brunser

Capítulo 2

FISIOLOGÍA GÁSTRICA: ÁCIDO CLORHÍDRICO
Y PROTEASAS.....39
Carolina Serrano, Paul R. Harris

Capítulo 3

ABSORCIÓN INTESTINAL DEL AGUA
Y LOS ELECTROLITOS.....61
Martín Gotteland

Capítulo 4

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LOS HIDRATOS
DE CARBONO.....75
Roberto Quezada, Maricela Díaz, Buford L. Nichols

Capítulo 5

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LOS LÍPIDOS.....105
Martín Gotteland, Oscar Brunser

Capítulo 6

DISGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LAS PROTEÍNAS.....123
Martín Gotteland, Oscar Brunser

Capítulo 7

ABSORCIÓN Y TRANSPORTE DE
MICROMINERALE.....133
Manuel Olivares, Fernando Pizarro, Daniel López de
Romaña, Miguel Arredondo

Capítulo 8

ABSORCIÓN Y TRANSPORTE DE VITAMINAS.....151
Daniel López de Romaña, Gabriela Durán

Capítulo 9

ABSORCIÓN DE CALCIO, FÓSFORO
Y VITAMINA D.....167
Santiago Muzzo

Capítulo 10

ABSORCIÓN Y METABOLISMO INTESTINAL
DE POLIFENOLES Y VITAMINA C.....179
Catalina Carrasco, María Luisa Mizgier

Capítulo 11

MOTILIDAD COLÓNICA, DEFECACIÓN
Y SUS ALTERACIONES.....197
Carlos Defilippi

Capítulo 12

MICROBIOTA INTESTINAL, PREBIÓTICOS
Y PROBIÓTICOS.....215
Martín Gotteland, Oscar Brunser

Capítulo 13

INMUNIDAD DE LA MUCOSA
GASTROINTESTINAL.....237
Lei Lu, W. Allan Walker

Capítulo 14

MECANISMOS DE CONTROL
DE LA INGESTA DE ALIMENTOS.....259

Fernando Torrealba

Capítulo 15

ALTERACIONES DE LA ABSORCIÓN DE
NUTRIENTES. ENFERMEDAD CELÍACA.....273

Sylvia Cruchet, Oscar Brunser

Capítulo 16

FISIOLOGÍA HEPÁTICA.....303

Juan Pablo Arancibia, Sandra Hirsch, Jaime Poniachik

Capítulo 17

FUNCIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA.....319

Zoltán Berger

Estructura del intestino delgado

Óscar Brunser

La barrera más extensa que separa al organismo del medio ambiente externo es el epitelio intestinal, la monocapa de enterocitos que recubre el lumen del intestino delgado. Esta no es una barrera pasiva sino una defensa activa frente a las bacterias, virus, parásitos y moléculas provenientes del exterior, incluyendo los alimentos. Las enzimas y las sales biliares secretadas al lumen del intestino, digieren los nutrientes presentes en los alimentos y los enterocitos se encargan de su digestión terminal así como de transportar en forma eficiente los compuestos resultantes, ya sea mediante procesos selectivos y regulados o por difusión pasiva. Los enterocitos tienen también la capacidad de transportar moléculas en sentido inverso, es decir, desde la circulación sanguínea y linfática y a través de la lámina propia hacia el lumen intestinal; este tránsito opera principalmente para el agua, los electrolitos, y también son transportadas, aunque en cantidades mucho menores, moléculas de mayor tamaño como la seroalbúmina y las inmunoglobulinas. Estos intercambios son posibles porque el conjunto de células constituido por los enterocitos, en conjunto con el tejido conectivo subyacente, integran una unidad funcional: la mucosa intestinal. En la mucosa intestinal, la lámina propia proporciona no sólo un soporte físico para el epitelio, sino que aporta mecanismos defensivos que constituyen el mayor sistema inmunitario del organismo. Los capilares sanguíneos transportan rápida y eficientemente los nutrientes hidrosolubles absorbidos a través del hígado, mientras que los capilares linfáticos movilizan los triglicéridos y otros compuestos liposolubles presentes en forma

particulada mediante los quilomicrones, que se incorporan en último término a la circulación venosa pero sin pasar por el hígado. El funcionamiento de la mucosa intestinal es modulado por una densa inervación autónoma que representa, por su peso, el segundo órgano del sistema nervioso y, adicionalmente, por un conjunto de células que sintetizan péptidos hormonales con funciones endocrinas, paracrinas y autocrinas como parte de lo que ha sido denominado el sistema enteroendocrino.

El objetivo de este capítulo es describir la mucosa del intestino delgado, que, aunque aparentemente es simple, es el sustrato anatómico de una funcionalidad extraordinariamente compleja.

La pared del intestino delgado

En forma esquemática la pared del intestino delgado está formada, desde el interior hacia el exterior, por la mucosa intestinal con su monocapa de células epiteliales prismáticas y la lámina propia de tejido conectivo laxo que le proporciona soporte, nutrición y defensa. Inmediatamente por fuera de la mucosa hay una delgada capa de fibras musculares lisas, la *muscularis mucosae*, que marca el límite entre la mucosa y las demás estructuras de la pared del intestino. Por fuera de la *muscularis* la submucosa está formada por tejido conectivo más denso por el que transitan vasos sanguíneos arteriales que proporcionan la irrigación sanguínea a la mucosa, y por venas y vasos linfáticos que transportan al resto del organismo los nutrientes absorbidos; en la submucosa hay además numerosos nervios y ganglios del

sistema nervioso autónomo. Por fuera de la submucosa hay dos capas de tejido muscular liso, la interna denominada circular interna cuyas fibras musculares lisas están dispuestas en espirales apretadas en tanto que la más externa, cuyas espirales son muy alargadas, es denominada capa longitudinal externa.

La mucosa del intestino delgado

A simple vista la superficie interna del intestino delgado está caracterizada por repliegues semilunares formados por la mucosa y la submucosa, llamados válvulas conniventes o pliegues de Kerkring, cuya

orientación es perpendicular a la dirección del lumen (Figura 1). Las válvulas sobresalen de la superficie de la mucosa hasta 10 milímetros y miden de 25 a 50 milímetros de largo. La función de estas estructuras es favorecer la mezcla del contenido del lumen con las secreciones intestinales, pancreática y biliar y hacer más eficiente el proceso de la digestión (1). El número de válvulas conniventes va disminuyendo desde el duodeno hacia el íleon, a cuyo nivel la superficie de la pared es prácticamente lisa, a excepción de los folículos linfáticos solitarios y de las placas de Peyer, en posición antimesentérica. El aspecto aterciopelado de la mucosa se debe a las vellosidades intestinales, todas más o menos de

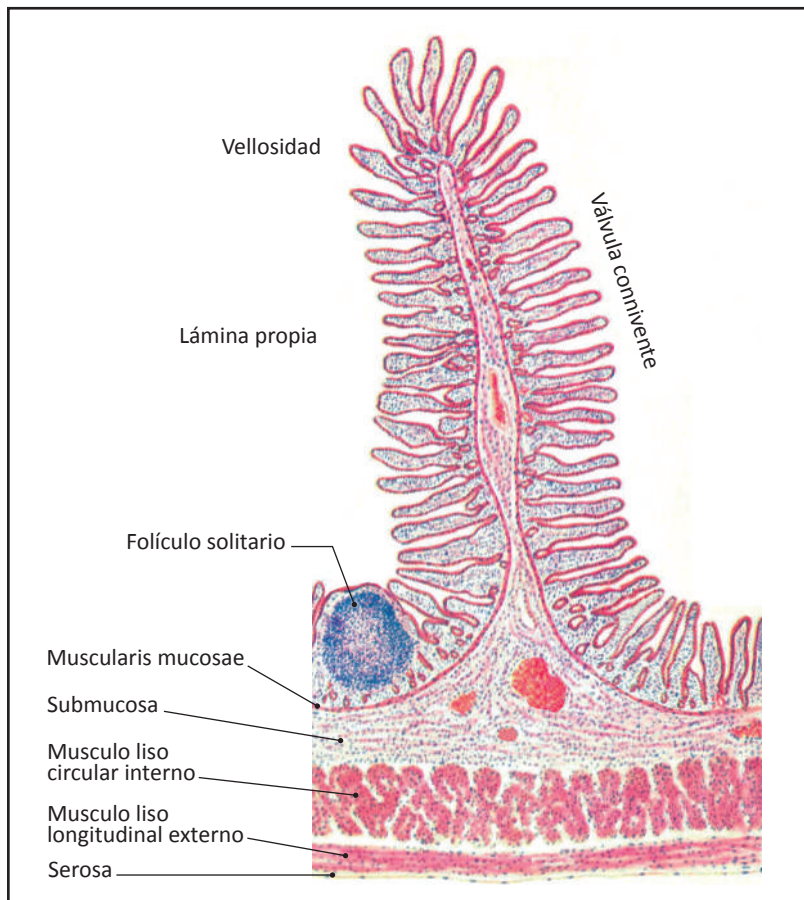


Figura 1. Esquema de la estructura de la mucosa del intestino delgado. Se observan sus principales componentes: la mucosa y la submucosa forman la válvula connivente que se proyecta al lumen intestinal y está constituida por un eje de tejido conectivo y vellosidades de tamaño homogéneo. El epitelio intestinal recubre las vellosidades y en la profundidad de la mucosa forma las criptas de Lieberkühn. Por debajo de la muscularis mucosae se encuentra la submucosa que contiene venas, arterias y elementos del sistema nervioso autónomo y está formada por tejido conectivo. Las dos capas musculares lisas y la serosa están claramente diferenciadas.

igual altura, dispuestas apretadamente y que se proyectan al lumen (Figuras 2 y 3). El espesor total de la mucosa, medido desde el ápice de las vellosidades hasta la muscularis mucosae es de 450 a 500 μm de altura (2). Las vellosidades representan aproximadamente tres a cuatro quintos de este espesor (Figura 4). El epitelio intestinal es una monocapa continua de células epiteliales prismáticas que recubren desde el fondo de las criptas de Lieberkühn hasta el extremo distal de las vellosidades. Las criptas representan el compartimiento germinal, de maduración y diferenciación de los enterocitos, en tanto que las vellosidades representan el compartimiento diferenciado, a cargo de la digestión terminal y la absorción de los nutrientes.

En observaciones con el microscopio de luz los enterocitos maduros son células prismáticas que miden unos 30 μm de altura, separadas del corion por una membrana basal delgada y refringente (Figura 5). Su superficie luminal se caracteriza por el ribete estriado, también llamado borde en cepillo. El grosor de esta estructura es de aproximadamente 1 μm y en cortes perpendiculares a la superficie se puede ver que está formada por estructuras filiformes dispuestas apretadamente; inmediatamente por debajo del ribete hay una zona de citoplasma de aproximadamente 0,5 μm de espesor carente de estructura y que apenas se tiñe.



Figura 2. Lumen del duodeno; visión endoscópica. Se observan válvulas conniventes y el aspecto aterciopelado que producen las vellosidades intestinales. (Cortesía Dr. P. Llorens).

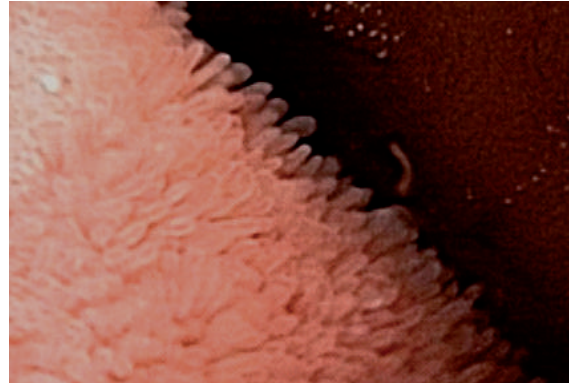


Figura 3. Imagen endoscópica de una válvula connivente con mayor aumento. Se observa la disposición compacta de las vellosidades intestinales digitiformes. (Cortesía Dr. P. Llorens).

En el ápice de los enterocitos, a nivel de la membrana intercelular, se observa una estructura densa que rodea todo el perímetro de la célula: fue denominada la banda de cierre en la histología clásica y corresponde al complejo de unión intercelular (3). El citoplasma de los enterocitos contiene abundantes gránulos que corresponden a mitocondrias, lisosomas y otros organelos. En las células epiteliales del tercio distal de las vellosidades hay gránulos densos que llegan medir 1-3 μm de diámetro y corresponden principalmente a lisosomas y cuerpos residuales; por encima del núcleo se pueden observar ocasionalmente gotas de grasa retenidas en el aparato de Golgi. El núcleo es ovoide y está situado en todas las células en la unión del tercio medio con el tercio inferior del citoplasma (Figura 6) (3).

Los enterocitos están estrechamente adosados unos a otros, aunque su base puede estar adelgazada y quedar separada de las células vecinas por espacios triangulares cuya base es la membrana basal. Estos espacios se vuelven más amplios cuando el epitelio transporta agua o triglicéridos.

Las criptas de Lieberkühn son el compartimiento germinativo y de diferenciación del epitelio. En su parte más profunda, inmediatamente por encima de las células de Paneth, reside al menos una célula madre (stem cell), que no tiene características morfológicas distintivas y que da origen a los distintos ti-

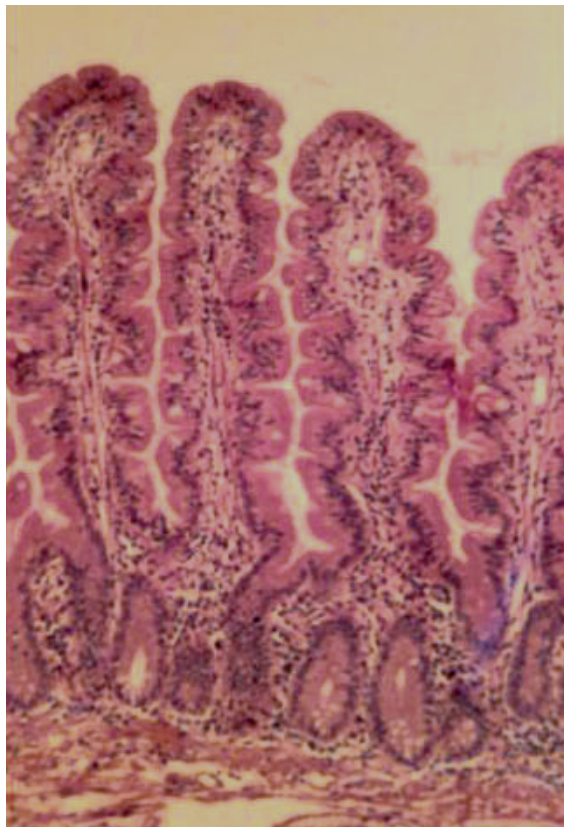


Figura 4. Intestino delgado, mucosa normal. Las vellosidades representan cuatro quintos del espesor total de la mucosa; su ápice es aguzado y presentan escotaduras laterales. El epitelio forma un continuo en las criptas y vellosidades y los núcleos están dispuestos a la misma altura. Entre las células epiteliales se observan células caliciformes cuyo mucus no se tiñe. El tejido conectivo del eje de las vellosidades y entre las criptas es escaso; se observan células mononucleares y fibras musculares lisas. Por debajo de las criptas hay fibras musculares lisas, la *muscularis mucosae*. (H.E. Original x 120).

pos de células del epitelio. La célula madre se divide aproximadamente cada 25 días dando origen a otra célula madre y a una célula epitelial indiferenciada que se divide repetidamente a intervalos cortos, generando el clon de enterocitos que reemplazará a las células que, después de madurar y migrar en columnas ordenadas, se descaman en el ápice de las vellosidades en un ciclo vital que dura 5 días aproximadamente (Figura 7) (4-5). En los lactantes nor-

males aproximadamente el 4 % de las células de las criptas está en algún estadio de la división mitótica (2). Las células de las criptas tienen forma aproximadamente piramidal, su ribete estriado es poco visible, delgado e irregular y el núcleo ocupa buena parte del tercio basal de su citoplasma.

Intercaladas entre los enterocitos se encuentran células productoras de mucina, las células caliciformes (Figuras 5 y 6) y células que secretan péptidos con importantes actividades hormonales y reguladoras, las células del sistema enteroendocrino (Figura 8), llamadas también enterocromafines y, en el fondo de las criptas, caracterizadas por sus gránulos voluminosos, hay células que secretan principalmente proteínas y péptidos con actividades antibacterianas, las células de Paneth (Figura 9).

Sirviendo de soporte y proporcionando vascularización sanguínea y linfática e inervación a la mucosa del intestino delgado, el tejido conectivo de la lámina propia no sólo sirve de soporte al epitelio sino que es el asiento del sistema inmune más voluminoso del organismo, que participa tanto en las respuestas inmunes innatas como en las adaptativas (Figuras 10 y 11). Entre el tejido conectivo de la lámina propia y el epitelio hay, incluso en circunstancias normales, un activo intercambio de linfocitos y muy ocasionalmente de algún eosinófilo. En la mucosa intestinal normal no hay tránsito de neutrófilos.

El tejido conectivo de la mucosa intestinal es el asiento de una compleja y tupida red de elementos del sistema nervioso autónomo: este sistema es segundo y muy próximo en tamaño al cerebro del sistema nervioso central, por lo que este sistema difuso ha sido llamado el segundo cerebro. Frecuentemente se observan en la lámina propia de la mucosa ganglios nerviosos de diverso tamaño y con números variables de neuronas y células gliales (Figura 12).

Prácticamente todas y cada una de las células propias del tejido conectivo: miofibroblastos, fibroblastos, fibras musculares lisas y elementos vasculares sanguíneos arteriales y venosos así como linfáticos de todos los calibres, están profusamente inervados. Algunas células del sistema enteroendocrino emiten prolongaciones citoplasmáticas a la lámina propia,

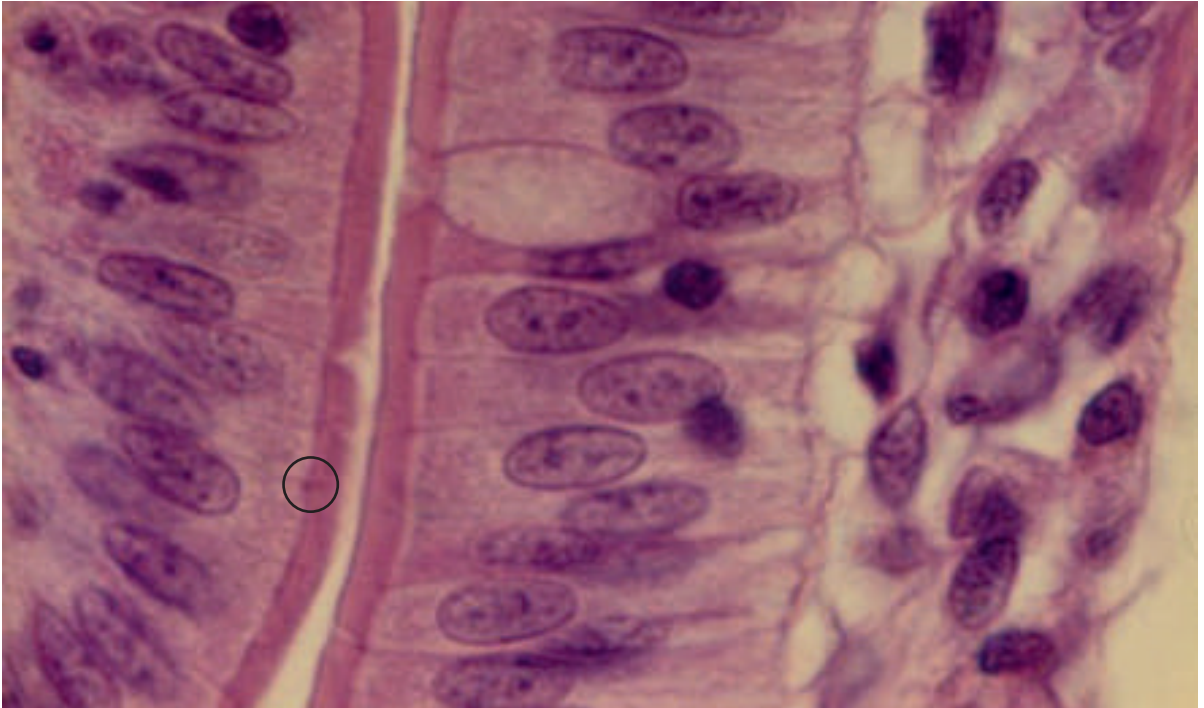


Figura 5. Epitelio de vellosidad intestinal. Está formado por células prismáticas altas con sus núcleos aproximadamente a la misma altura; el ribete estriado es grueso y parejo; a nivel de las uniones intercelulares se observan las bandas de cierre como puntos oscuros (círculo). Debajo del ribete estriado hay una zona clara sin organelos. El citoplasma es granular. La membrana basal es gruesa y refringente. Hay linfocitos intraepiteliales. La célula caliciforme se inserta en la membrana basal por un pie delgado y basófilo que contiene el núcleo; su teca se abre al lumen por un ostium estrecho. En la lámina propia se observan miofibroblastos, linfocitos y capilares subepiteliales. (H.E. Original x 1200).

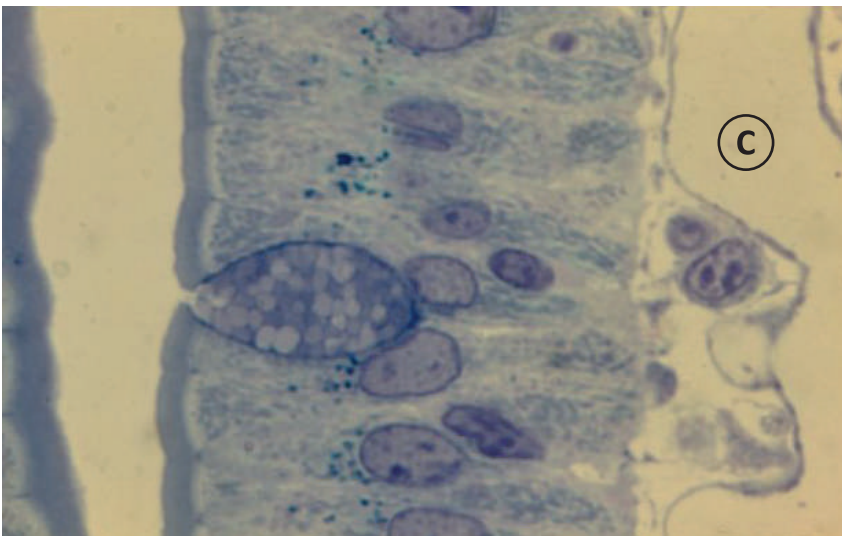


Figura 6. Preparación semejante a la anterior. Fijación en osmio, inclusión en Epon, corte de 0,75 μm de espesor. En el ribete estriado se vislumbran microvellosidades individuales así como sus raíces y las bandas de cierre. En el citoplasma hay abundantes mitocondrias y gránulos oscuros que corresponden a lisosomas. En la teca de la célula caliciforme hay gránulos de mucus con diferente afinidad tinte. No se observa una membrana basal definida como en la figura anterior. Hay dos linfocitos intraepiteliales. Por debajo del epitelio se ve el lumen de un capilar (C). (Azul de metileno-Azur II. Original x 1200).

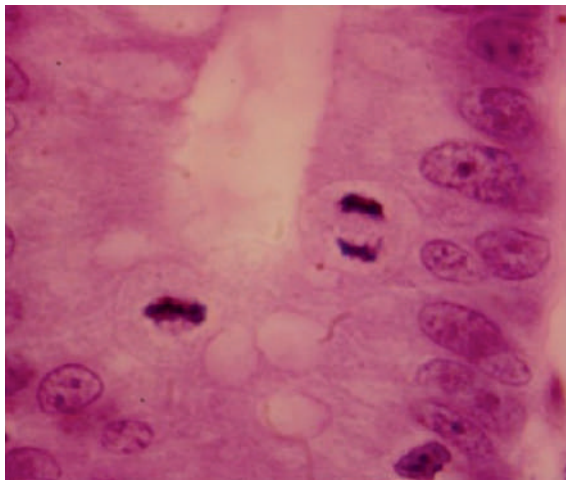


Figura 7. Células en mitosis en cripta de Lieberkühn. La mitosis inferior es una metafase y se observan su huso acromático y un centro celular. La otra mitosis está en telofase y se está formando el plano de división del citoplasma. (HE. Original x 1200).

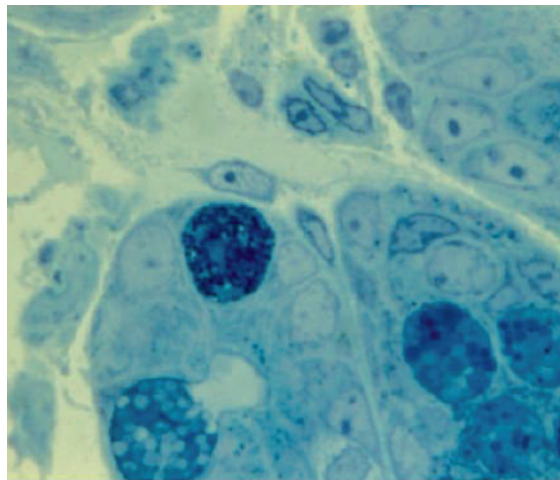


Figura 8. La célula del corte transversal de una cripta cuyo citoplasma está ocupado por gránulos densos que ocultan el núcleo, es un elemento del sistema enteroendocrino. (Epon. Azul de metileno-Azur II. Original x 500.)

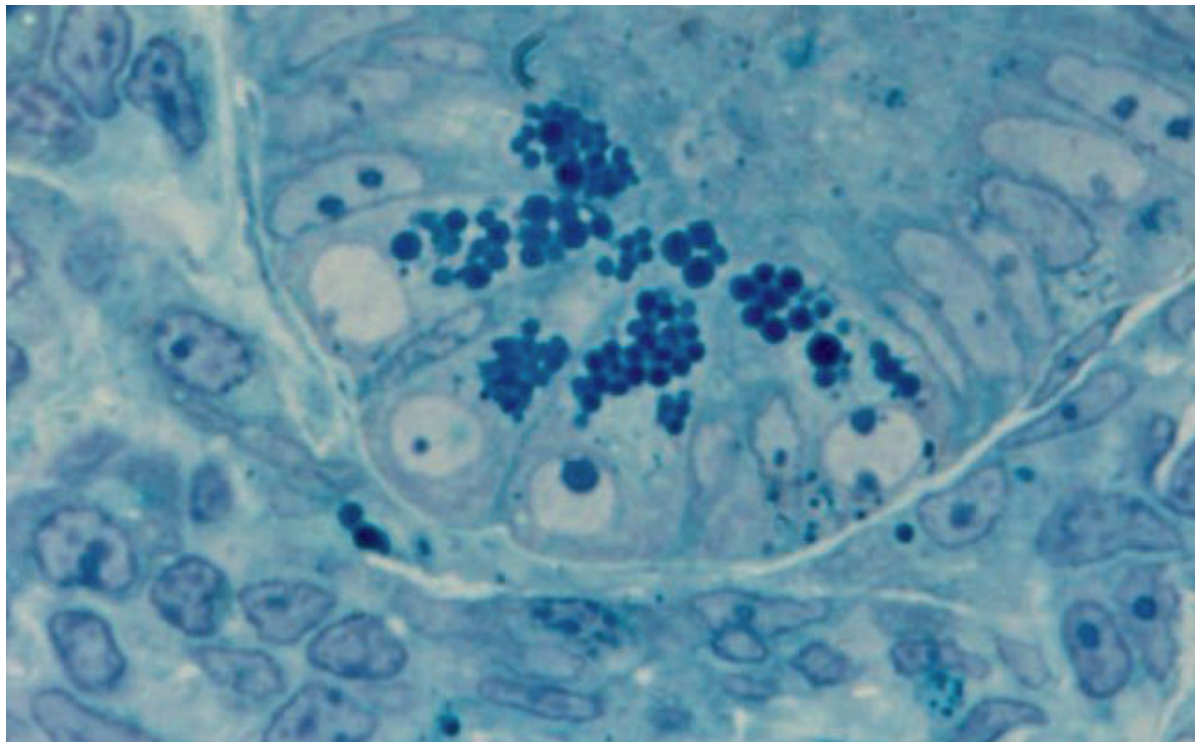


Figura 9. Cripta de Lieberkühn cuyo fondo hay células de Paneth cuyo citoplasma supranuclear está ocupado por gránulos densos. (Epon. Azul de metileno-Azur II. Original x 500).

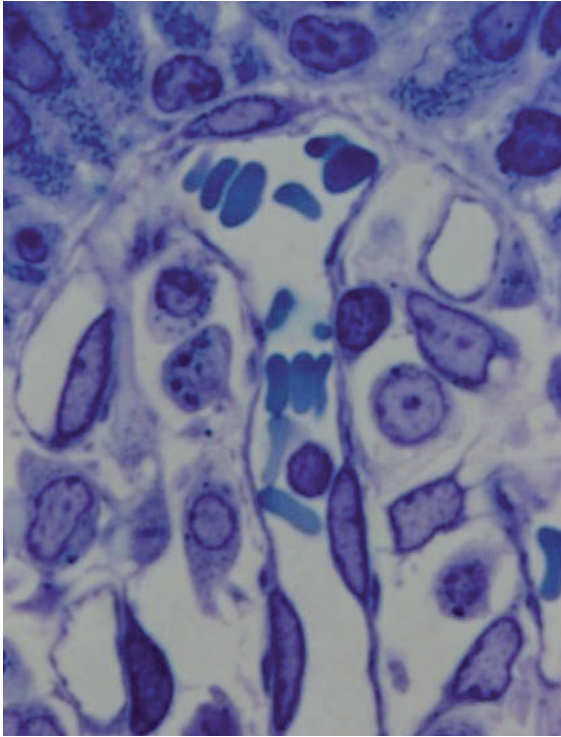


Figura 10. Eje de tejido conjuntivo de una vellosidad. Se observa la arteriola central de la vellosidad con eritrocitos y un linfocito en su lumen; en su extremo distal la arteriola se divide en una rama izquierda y otra derecha cuyos capilares descienden en espiral inmediatamente por debajo del epitelio; se observan dos capilares a izquierda y uno a derecha. (Epon. Azul de metileno-Azur II. Original x 450).

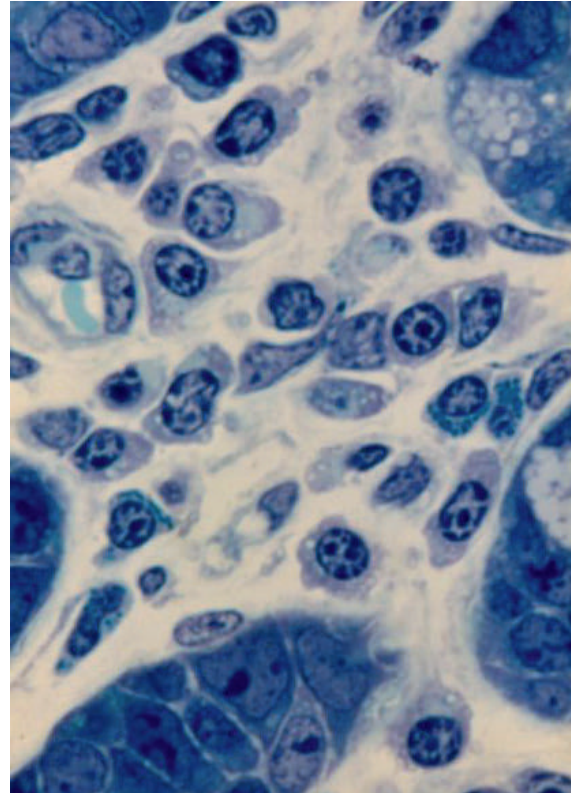


Figura 11. Células de la lámina propia. Entre las criptas de Lieberkühn se observan células plasmáticas en cuyo núcleo la cromatina se dispone en "rueda de carreta"; su aparato de Golgi es prominente y se tiñe celeste. Hay también linfocitos, fibroblastos y un capilar. (Epon. Azul de metileno-Azur II. Original x 600).

las que también están inervadas. Al observar con el aumento y la resolución que proporciona el microscopio electrónico, se observa el gran número de axones amielínicos que en haces de grosor variable y mediante sinapsis efectúan las inervaciones.

Ultraestructura de la mucosa yeyunal. Los enterocitos

El ribete estriado

El ribete estriado es la diferenciación citoplasmática distintiva de las células epiteliales intestinales. Está formado por las microvellosidades y sus raíces, por una estructura filamentosa paralela a la superficie luminal del enterocito denominada la malla

terminal y por el complejo de unión, que establece contactos íntimos entre los enterocitos contiguos y regula además aspectos importantes de la permeabilidad de la mucosa y del pasaje de moléculas desde y hacia el lumen intestinal (Figura 13 y 14) (6). Las microvellosidades están dispuestas apretadamente en la superficie luminal de los enterocitos formando conjuntos compuestos por seis microvellosidades en disposición hexagonal más una séptima ocupando el centro (Figuras 16a y b). En los enterocitos maduros las microvellosidades miden aproximadamente 1 μm de largo y su diámetro es de aproximadamente 0,08 μm . (Figura 15). En las células de las partes profundas de las criptas, la altura de

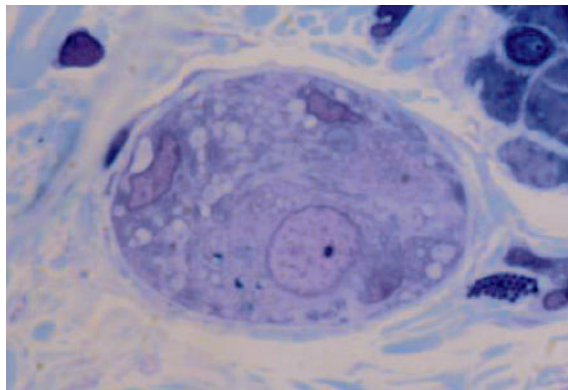


Figura 12. Ganglio del plexo nervioso de Meissner. Está rodeado por una cápsula y en su mayor parte está ocupado por una única neurona voluminosa, con núcleo redondeado y un nucleolo pequeño y denso. Hay además dos células de Schwann y cortes de axones que se observan como estructuras circulares. (Epon. Azul de metileno-Azur II. Original x 250).

las microvellosidades es menor y su disposición es menos densa. El extremo distal de las microvellosidades es una semiesfera formada por la membrana plasmática en cuya hoja interna hay una placa densa donde se inserta un haz formado por 20-25 filamentos de actina que forman un eje central a lo largo de la microvellosidad y que está separado de la membrana plasmática por una zona sin estructuras; al penetrar en el citoplasma del enterocito el haz forma la raíz de las microvellosidades, se vuelve compacto, los espacios entre los filamentos son ocupados por un material denso y las raíces terminan sin conexiones con otra estructura de la célula (Figura 15) (6). La estructura del haz de actina se mantiene por la acción estabilizadora de dos proteínas, la fimbrina y la villina (7, 8). Entre la hoja interna de la membrana plasmática de la microvellosidad y los filamentos de

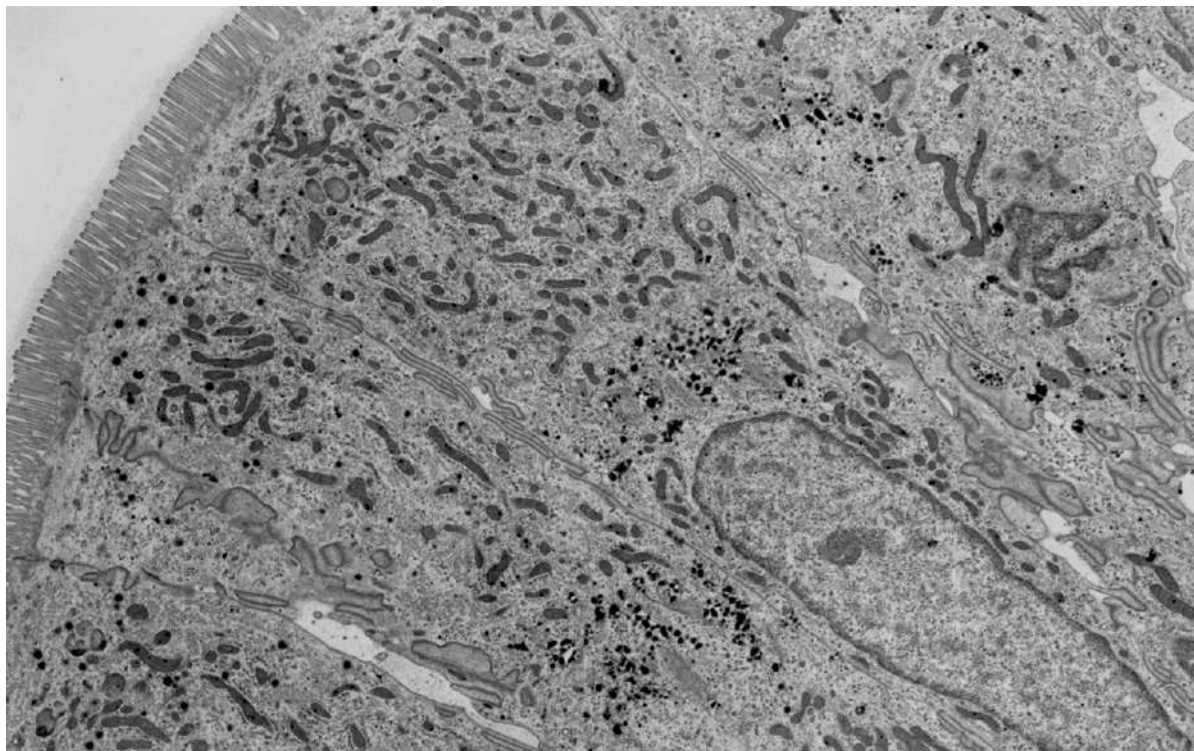


Figura 13. Vista general con el microscopio electrónico del epitelio intestinal. El ribete estriado está constituido por microvellosidades de forma y tamaño regulares. En el citoplasma hay mitocondrias alargadas y cisternas del retículo endoplásmico; el aparato de Golgi es supranuclear y contiene algunas gotas de grasa teñidas de negro por el osmio. El núcleo es ovoide. (Original x 3200).

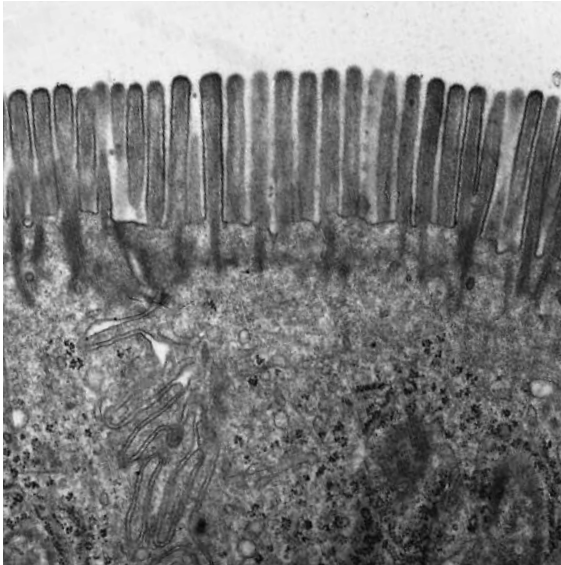


Figura 14. Ribete estriado de enterocito a bajo aumento. Se observan las microvellosidades, sus raíces y la malla terminal horizontal por debajo del ribete, con algunas brechas. A la izquierda hay una unión intercelular con su complejo de unión (banda de cierre). (Original x 12000).

actina se extienden perpendicularmente moléculas de calmodulina y de miosina-1 que estabilizan toda la estructura (9-11). En embriones de pollo se ha podido observar que las microvellosidades se contraen con alta frecuencia, lo que contribuiría a promover un mejor contacto con el contenido intestinal y acelera el tránsito de las moléculas absorbidas hacia el citoplasma de los enterocitos. Los espacios entre las raíces de las microvellosidades están ocupados por un material amorfo y poco denso donde no hay organelos citoplasmáticos. Por fuera de la hoja externa de la membrana plasmática de las microvellosidades, se extiende una capa de mucopolisacáridos que son sintetizados en el aparato de Golgi y transportados hacia el lumen. Esta capa, denominada glicocálix, se visualiza en forma de filamentos muy delgados y cortos en el ser humano y es mucho más prominente si se tiñe con sales de metales pesados, como es el rojo de rutenio. Esta estructura contribuiría a la defensa del intestino por cuanto en ella se concentrarían moléculas con actividad contra bac-

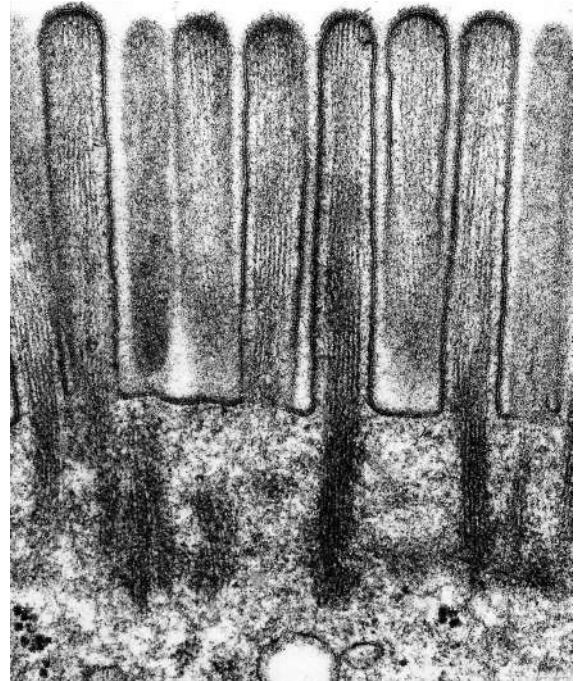


Figura 15. Corte longitudinal de ribete estriado. Microvellosidades con filamentos de actina que forman su eje y su raíz. En la cúpula de las microvellosidades la actina se inserta en un material denso debajo de la hoja interna de la membrana plasmática. Los filamentos de la raíz terminan por debajo de la malla terminal, que presenta una brecha. Rata. (Original x 120.000).

terias y sus productos, como la inmunoglobulina A secretoria y la fosfatasa alcalina (Figura 17).

A nivel de la parte profunda de las raíces de las microvellosidades, y en un plano paralelo a la superficie apical de la célula, se extiende una placa filamentosa perforada denominada malla terminal, que se inserta lateralmente en la membrana plasmática a nivel de la zónula adherens del complejo de unión intercelular donde, en cortes bien orientados, dicha malla terminal forma una placa densa paralela a la membrana intercelular; estas placas están formadas por α -actinina y vinculina (Figura 18) (12). La inserción de la malla terminal en la membrana plasmática del enterocito y su disposición formando un anillo denso, continuo, formado por filamentos de actina, que se extiende alrededor del ápice de la célula junto con la zonula adhaerens,

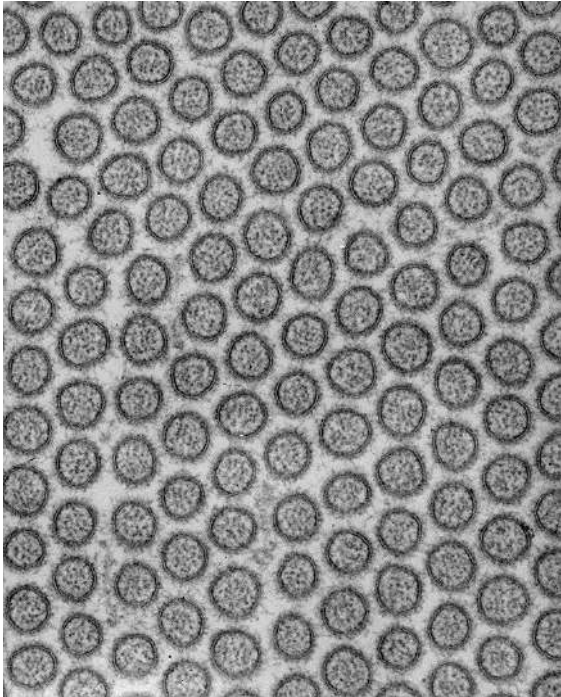


Figura 16a. Corte transversal del ribete estriado. Las microvellosidades se disponen en grupos de “seis y una al centro”, índice de que su empaquetamiento es el máximo posible. El diámetro de las microvellosidades es uniforme así como el grosor de su membrana plasmática. (Original x 19000).

es importante para la estabilidad mecánica del ápice del enterocito, que puede ser separado como una sola unidad del resto del cuerpo celular por métodos físicos (vibración, shock osmótico). La malla terminal está formada principalmente por miosina no muscular y otras proteínas, algunas de las cuales establecen uniones con los filamentos de actina de las raíces de las microvellosidades; de manera que los microfilamentos de la malla terminal conectan entre sí las raíces de las microvellosidades y es probable que establezcan asimismo algún tipo de conexiones con los filamentos de citoqueratina de la malla desmosómica e incluso con vesículas que son transportadas hacia el interior del enterocito (Figura 16b). Entre las raíces de las microvellosidades, pero sin entrar en contacto con ellas, la malla terminal es atravesada por filamentos intermedios de citoqueratina que se originan en los desmosomas y que

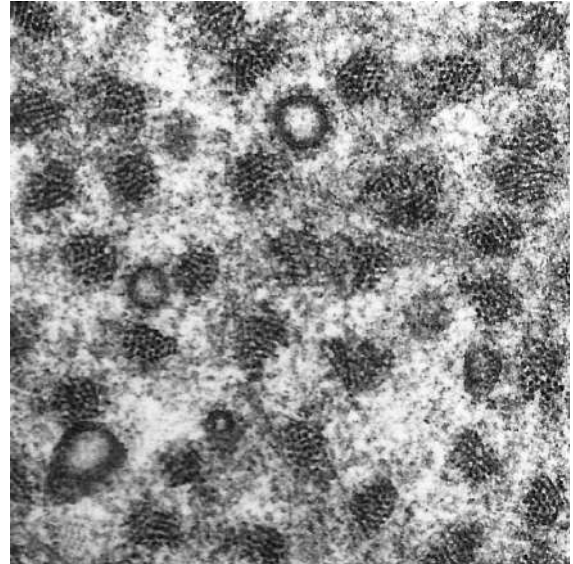


Figura 16b. Corte transversal del ribete estriado a nivel de las raíces de las microvellosidades y la malla terminal. Se observa el haz denso de filamentos de actina de las raíces y la malla terminal que se dispone entre ellas como acúmulos de material denso; a ese nivel hay también algunos filamentos del citoesqueleto desmosómico. (Original x 72.500).

sigue trayectos arqueados en su espesor; estos filamentos contribuyen a anclar el ápice al citoplasma del enterocito (Figuras 16b y 18).

La rigidez, elasticidad y estabilidad del ápice de los enterocitos se debe a la disposición particular de sus constituyentes y le permite adaptarse a las fuerzas mecánicas a las que es sometido. Al distender asas de intestino delgado de ratas inyectando al lumen suero fisiológico a presión, se produce una reorientación de la malla terminal que se vuelve densa, lo que también sucede con los filamentos del citoesqueleto desmosómico que se disponen paralelamente a la superficie luminal; al mismo tiempo la disposición ordenada de las microvellosidades insertas en el borde de las brechas de la malla terminal, se altera por la tracción que ésta ejerce a nivel del extremo de las raíces desde diferentes sentidos (Figura 19) (6).

Entre las raíces de las microvellosidades se observan con frecuencia canales pinocitóticos y vesículas con

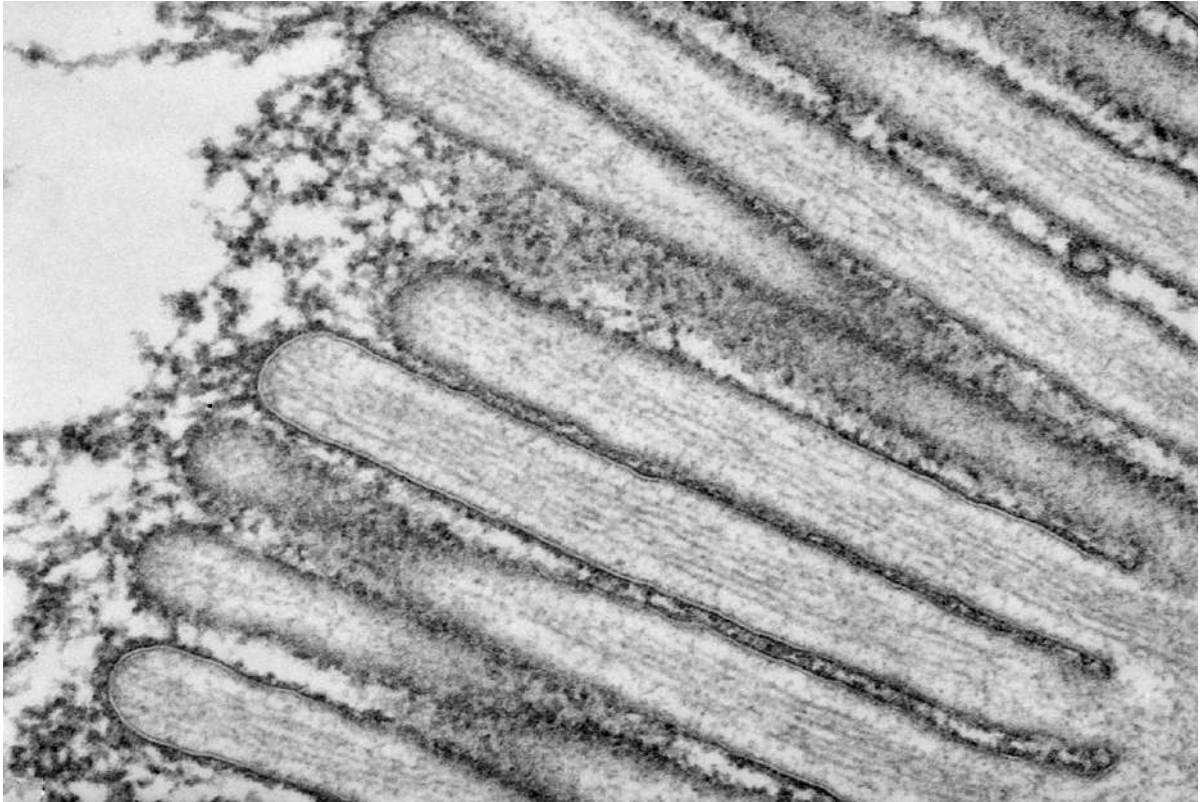


Figura 17. Microvellosidades del ribete estriado de una célula epitelial del tercio medio de una vellosidad. Por fuera de la hoja externa de la membrana plasmática se observa una red tupida de filamentos cortos que se tiñen fuertemente con rojo de rutenio y corresponden al glicocáliz. (Tinción en bloque: rojo de rutenio. Original x 110.000).

cubiertas de clathrina que transitan hacia el interior de la célula. Es probable asimismo que algunas vesículas se muevan en sentido inverso como parte de procesos de exocitosis (Figura 20).

La membrana plasmática

La membrana plasmática no sólo define los límites de cada célula, sino que mediante su permeabilidad selectiva y sus mecanismos de transporte posibilita que se generen diferencias de composición y de parámetros físico-químicos entre los compartimientos extra e intracelular. La membrana plasmática es la estructura que tienen que atravesar las moléculas absorbidas por mecanismos activos, facilitados o

pasivos, participa en el proceso de recepción de señales y en su transcripción hacia el interior de los enterocitos que como respuesta modifican su fisiología. Por otra parte, moléculas sintetizadas por las células pueden difundir hacia células vecinas o lejanas en procesos de transporte en que también participa la membrana celular.

La estructura básica de la membrana plasmática es la bicapa de lípidos, formada fundamentalmente por ácidos grasos y 500 a 1.000 fosfolípidos, esfingolípidos y esteroides químicamente diferentes. Los fosfolípidos son una familia compleja de moléculas que tienen en su composición una molécula de glicerol cuyos tres hidroxilos están esterificados por dos ácidos grasos con distintos grados de insatura-

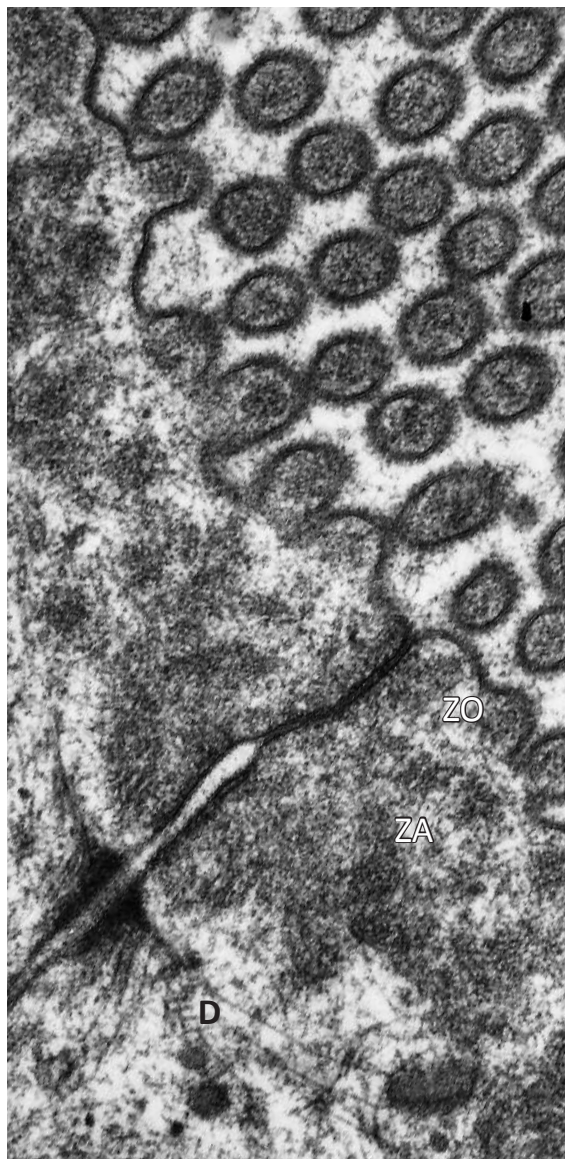


Figura 18. Complejo de unión intercelular. Desde la parte más superficial a la más profunda del complejo se observan la unión impermeable (zonula occludens, ZO), la unión intermedia (zonula adhaerens, ZA) y el primer desmosoma (macula adhaerens, D). A nivel de la unión impermeable las hojas externas de la membrana plasmática de ambas células están fusionadas, de manera que se visualizan sólo cinco capas en vez de seis. En la zonula adhaerens se observan las placas densas por dentro de la hoja interna de la membrana plasmática. Se observa parte del primer desmosoma y filamentos del citoesqueleto. (Original x 110.000).

ción y un fosfato de colina. Esta estructura química hace que los fosfolípidos insertados en la bicapa de ácidos grasos se orienten con su componente polar expuesto hacia la superficie externa de la membrana, en tanto que su segmento no polar queda incluido en el espacio apolar generado por las cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos. A la bicapa de ácidos grasos se agregan además ésteres de colesterol y esfingolípidos que poseen en su estructura química fracciones hidrocarbonadas. La membrana plasmática puede ser considerada como una estructura bidimensional cuya fluidez depende del grado de insaturación de los ácidos grasos de sus lípidos: mientras más insaturados son éstos, mayor es la fluidez de la membrana, es decir, la movilidad lateral de las moléculas proteicas insertas en su espesor, fundamentalmente enzimas, transportadores y receptores. La composición de las membranas celulares varía en los distintos tipos de células, lo que explica las diferencias detectables en sus funciones (13).

Algunas de las moléculas lipídicas de la hoja externa de la membrana plasmática, tienen incorporada en su estructura fracciones glucosídicas cuya distribución de cargas polares es muy asimétrica y están orientadas principalmente hacia los espacios extracelulares. Estos glucolípidos son sintetizados en el aparato de Golgi y desde aquí migran a la superficie externa de la membrana de las microvellosidades, como se discutió anteriormente. Los glucolípidos más complejos son los gangliósidos, cuyos residuos de ácido siálico le confieren a la molécula una fuerte carga electronegativa. La diferente disposición espacial de los átomos de carbono de los componentes glicosídicos genera isómeros para cada glicolípido y da origen a diferentes disposiciones espaciales y cargas eléctricas en la superficie de las membranas; por este motivo los glicolípidos actúan como receptores para moléculas provenientes del medio externo e intervienen en procesos de reconocimiento celular. El gangliósido M1, presente en la membrana plasmática de los enterocitos de las criptas, es el receptor para las toxinas del *Vibrio cholerae* y termolábil de *E. coli* enterotoxigénica; la unión de las toxinas con el gangliósido permite su penetración al citoplasma de



Figura 19. Apice de un enterocito de la unión cripta-vellosidad sometido a tracción por distensión del asa intestinal. Las microvellosidades se han separado entre sí y se proyectan desde la superficie de la célula en varios ángulos porque sus raíces están unidas al borde de las brechas de la malla terminal; ésta última está adelgazada por el estiramiento. A la izquierda de la ilustración las placas de los desmosomas están traccionadas y separadas y los filamentos del citoesqueleto forman haces densos que cruzan el ápice de los enterocitos. (Original x 45.000).

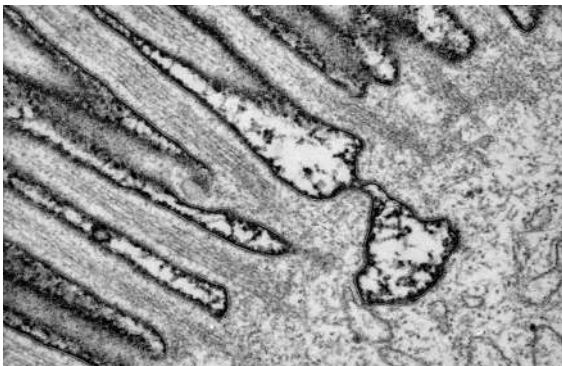


Figura 20. Canalículo pinocítico conectado con el lumen intestinal. El glicocálix de la membrana plasmática está teñido con rojo de rutenio, lo que permite establecer que esta estructura y su contenido están penetrando al interior del citoplasma del enterocito desde el lumen. (Original x 110.000).

los enterocitos, donde activan permanentemente la adenil ciclasa que produce el AMP cíclico; este estimula la secreción de grandes cantidades de cloruro y de agua hacia el lumen intestinal por el resto de la vida de la célula (14).

Algunas de las proteínas de las membranas celulares tienen actividad enzimática o actúan como transportadores y pueden estar incluidas en forma total o parcial en el espesor de la bicapa lipídica; en este último caso algunas de sus estructuras funcionales sobresalen en una o ambas superficies de la bicapa. Las proteínas encargadas del transporte de iones y de moléculas hidrosolubles tienen estructuras lineales en que uno o varios de sus segmentos son transmembranosos. Además, muchas proteínas se mueven en el plano de la membrana plasmática en tanto que otras quedan inmovilizadas en conjunto con lípidos y glicolípidos en dominios específicos, formando estructuras moleculares que llenan funciones específicas para la célula.

En las células epiteliales intestinales el complejo de unión impide la migración de las moléculas situadas en la membrana por encima de la unión estrecha hacia la membrana basolateral de la célula y algo semejante sucede con las moléculas de la membrana basocelular, cuya movilidad hacia el ápice de la célula también es bloqueada por el complejo de unión.

Esto explica porqué la membrana plasmática de los enterocitos tiene dos espesores diferentes: 105 Angstrom a nivel de las microvellosidades debido a la gran cantidad de enzimas, transportadores y receptores incorporados en su espesor y sólo 72 Angstrom en la membrana basolateral (Figura 16) (15).

El complejo de unión y el transporte paracelular

El complejo de unión de las membranas intercelulares fue descrito por Farquhar y Palade (16). Dicho complejo consta de tres componentes que, desde el más superficial al más profundo son: 1) la unión estrecha, llamada zónula ocludens (ZO); 2) la unión intermedia o zónula adhaerens (ZA) y finalmente 3) un desmosoma o mácula adhaerens (MA) (16, 17) (Figuras 18 y 21). Mientras que las zónulas ocludens y adhaerens son estructuras continuas que forman un anillo en la periferia de cada célula, los desmosomas son estructuras focales. Cuando la unión intercelular es observada con el microscopio de luz,



Figura 21. Complejo de unión en que se visualizan la unión impermeable, la unión intermedia y el primer desmosoma. En este último se observan las placas desmosómicas y la placa que bisecta su espacio intercelular. Tinción en bloque con acetato de uranilo. (Original x 80.000).

el complejo de unión aparece en la parte superior de la membrana intercelular como una mancha densa a nivel del ápice celular, y recibió el nombre de banda de cierre (Figuras 5 y 6) (3).

En observaciones con el microscopio electrónico la zónula ocludens (en inglés tight junction), tiene una profundidad de 100 a 600 nm, mayor en las células de las vellosidades que en las criptas de Lieberkühn (16, 18). Su principal característica es que en cortes orientados adecuadamente se observan fusiones de las hojas externas de la membrana plasmática de las células contiguas, de manera que en vez de existir a ese nivel dos estructuras trilaminares en contacto con un total de seis capas, debido a dicha fusión sólo se observan cinco capas (Figura 18 y 21). Estas fusiones de las hojas externas de la membrana plasmática se producen en relación con una red de microfibrillas intramembranas y los correspondientes surcos que se forman a su nivel en el espesor de las hojas externas de la membrana plasmática; las fusiones cierran los espacios intercelulares. La unión estrecha es un componente fundamental de la función de barrera del epitelio, ya que establece la polaridad de las células epiteliales y regula la permeabilidad paracelular, un proceso complejo en el que participan moléculas que coordinan y regulan el paso de los solutos que de esta forma atraviesan la capa epitelial sin pasar por el citoplasma de los enterocitos (19).

En la enfermedad celíaca la profundidad de la unión estrecha y el número de fibrillas intramebranas están disminuidos y se ha postulado que esta es una manifestación ultraestructural de las alteraciones inducidas en los enterocitos por la gliadina; sería además una de las causas de las fallas de la función de barrera del epitelio intestinal en esta patología (Figura 22) (20). Se ha sugerido que las fallas de estos mecanismos también participarían en la patogenia de infecciones virales, de algunos tumores malignos y de enfermedades autoinmunes. Es posible que las células dendríticas puedan introducir prolongaciones citoplasmáticas a través de la unión impermeable para muestrear el contenido intestinal sin que se altere la capacidad de barrera del epitelio,

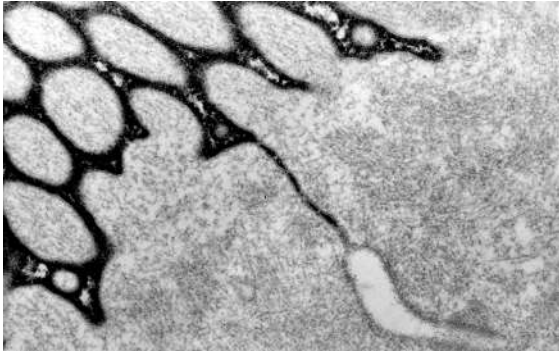


Figura 22. Complejo de unión de células epiteliales intestinales de la mucosa duodenal de un paciente celíaco no tratado. El tejido ha sido incubado con rojo de rutenio como trazador de permeabilidad, el que penetra en la unión impermeable hasta casi alcanzar la zónula adhaerens. En la enfermedad celíaca no tratada, la unión impermeable es poco profunda y el número de filamentos intermembranosos que sellan el espacio intercelular está disminuido. Esto permitiría el paso de moléculas provenientes de los alimentos y bacterias hacia el espacio intercelular del epitelio y al corion donde entran en contacto con el sistema inmune y pueden desencadenar respuestas adversas. (Tinción en bloque con rojo de rutenio. Original x 120.000).

ya que inducen la formación de otra unión impermeable por debajo de ellas; los neutrófilos también serían capaces de atravesar las uniones estrechas como parte de sus interacciones con las células epiteliales intestinales y el lumen intestinal durante procesos inflamatorios de la mucosa.

Además de las moléculas propias de la membrana celular, la unión estrecha incluye moléculas específicas: ocludina, claudinas, moléculas de adherencia de la unión intercelular (junctional adhesion molecules, JAMs) y tricelulina así como otras (ZO 1, 2 y 3) que forman un andamiaje de soporte de su estructura desde el lado citoplasmático de la membrana celular (20). Los animales incapaces de sintetizar ocludina debido a mutaciones o al knockout de su gen, sufren retrasos del crecimiento y presentan alteraciones histológicas del estómago, las glándulas salivales y el hueso compacto, además de calcificaciones cerebrales y atrofia testicular (21). Las mutaciones de los genes de la claudina inducen patologías hepáticas, renales y retinianas así como hipomagnesemia, nefrocalcinosis, insuficiencia renal progresiva y alte-

raciones oculares cuyo mecanismo causal no está aclarado (22). En la piel de los ratones recién nacidos, la mutación de una de las claudinas impide la formación de las uniones impermeables y los animales mueren en las primeras 24 horas de vida porque carecen de la capacidad de evitar pérdidas masivas de agua por la epidermis (23). Las mutaciones del gen de la tricelulina, que forma asas en las uniones estrechas en puntos en que confluyen tres células del epitelio, inducen sordera en los seres humanos cuando afectan a las células de la cóclea (24); no se conocen mutaciones de esta molécula que afecten a los enterocitos. Las JAMs participan en la regulación de la migración de neutrófilos y monocitos a través de capas de células epiteliales (25-27). Se han identificado otras moléculas que podrían participar en la estructura de las uniones estrechas, así como en la modulación de la permeabilidad paracelular, pero su función exacta es desconocida (19).

Las funciones de la unión intermedia (zónula adhaerens) (Figuras 18 y 21) incluyen la iniciación y estabilización de la adherencia entre los enterocitos y la regulación de su citoesqueleto de actina; también participa en la señalización intracelular y la regulación del proceso de transcripción (12). Al igual que en las uniones estrechas, en la zónula adhaerens existen moléculas características tales como el equinoide, la nectina y la afadina, cuya función y regulación funcional es poco conocida; estarían asociadas con la inserción de la malla terminal y con la placa densa paralela a la hoja interna de la membrana plasmática, que también rodea el ápice de los enterocitos inmediatamente por debajo de la unión estrecha (12, 29-32).

Los desmosomas son uniones intercelulares puntuales que establecen zonas delimitadas de adherencia entre células contiguas (Figuras 18, 21 y 23). El esqueleto de filamentos intermedios de citoqueratina forma una red en la periferia del citoplasma de los enterocitos y establece puntos de interacción con los desmosomas, proporcionando estabilidad mecánica a las células (33). Los desmosomas son especialmente abundantes en los tejidos que están sometidos en forma continua a fuerzas mecánicas,

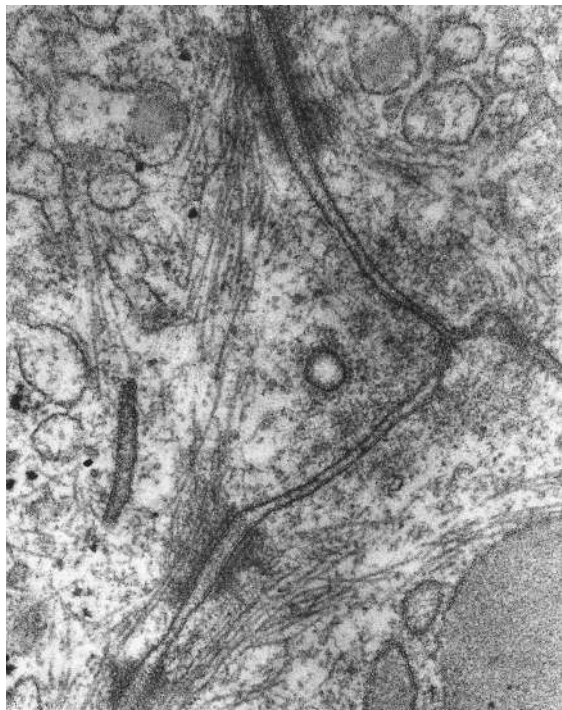


Figura 23. Sección horizontal de la unión de tres enterocitos. Se observan dos desmosomas con la placa que bisecta el espacio intercelular y las placas densas intracitoplasmáticas; los filamentos de citoqueratina hacen asas en su espesor y establecen conexiones con otros desmosomas. (Original x 100.000).

como es el caso del miocardio y la epidermis (34). En el epitelio intestinal los desmosomas más cercanos a la superficie forman parte del complejo de unión, en tanto que los más profundos están dispersos en distintos puntos de la membrana intercelular; son más abundantes en la mitad superior de estas células. El desmosoma típico está formado por dos placas densas paralelas: la externa está inmediatamente por dentro de la membrana plasmática y la interna es paralela a la primera y menos densa, de la que está separada por unos 40 nm (Figuras 18, 21 y 23). Los desmosomas están formados por moléculas específicas: la desmoplaquina, la placoglobina y la placofilina en la placa densa externa (35). Los filamentos intermedios del citoesqueleto llegan a la placa interna y forman asas en su espesor; a este nivel los filamentos quedan anclados y contribuyen

a repartir las fuerzas que puedan actuar sobre la membrana y el ápice de los enterocitos (34). Los filamentos intermedios también forman asas en el espesor de la malla terminal, en los espacios entre las raíces de las microvellosidades, lo que a su vez ayuda a anclar al ribete estriado a el cuerpo de la célula. A nivel del desmosoma, el espacio intercelular es rectilíneo, mide 20 a 35 nm de ancho y está bisectado por una placa densa formada por la superposición alternada de moléculas de desmogleína y desmocollina que se ordenan constituyendo puentes que se extienden desde el centro del espacio intercelular, hasta la membrana plasmática respectiva; es la superposición de estas moléculas la que se visualiza como la laminilla central; en este punto y a través de estos puentes intercelulares las dos mitades de desmosoma de células vecinas entran en contacto y se unen entre sí (Figuras 21 y 23) (6). Las mitades de desmosoma tienen diversos grados de adhesividad entre sí: se considera que las más adherentes se encuentran en un estado hiperadhesivo que representaría la situación normal, que les permite resistir tracciones mecánicas considerables (36); la integridad de este tipo de desmosomas es independiente de la presencia de calcio. Otra familia de desmosomas, menos adherentes, requiere la presencia de este catión para permanecer adheridos y se separan en presencia de quelantes (33). Es probable que las distintas calidades de adherencia respondan a diferentes señales intracelulares. No se han identificado mutaciones que afecten la función de los desmosomas a nivel del intestino, pero sus defectos a nivel de la piel están asociados con alteraciones de la descamación y el recambio celular de la epidermis (37).

El citoplasma de los enterocitos

El citoplasma de las células epiteliales intestinales maduras se caracteriza por la presencia de numerosas mitocondrias, aparato de Golgi, peroxisomas, vesículas y cisternas del retículo endoplásmico granular y liso, además de polisomas y ribosomas libres (Figura 24). En las células del tercio medio y sobre todo en aquellas del tercio distal de la vellosidad,

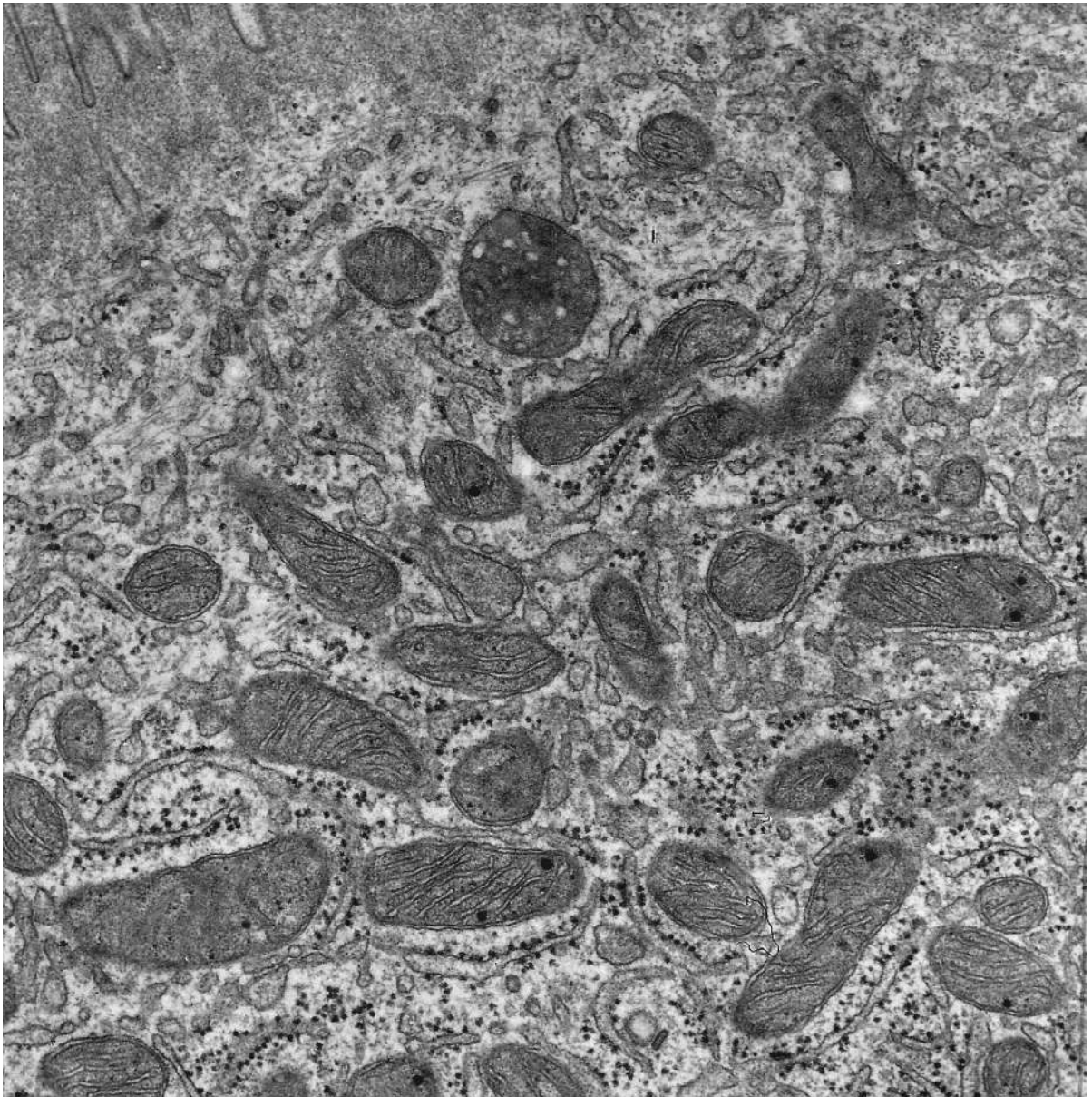


Figura 24. Vista general del citoplasma de un enterocito del tercio medio de una vellosidad. Se observan mitocondrias alargadas, muchas asociadas con el retículo endoplásmico granular al que están adheridos ribosomas aislados y polisomas. Hay algunas vesículas del retículo endoplásmico liso y en la parte superior de la ilustración un cuerpo multivesicular. (Original x 24.000).

se observan frecuentemente lisosomas de tamaño y complejidad variables, así como cuerpos multivesiculares. En el ápice de las vellosidades no es infrecuente encontrar autofagosomas de gran tamaño, sobre todo si las células han sufrido algún tipo de daño (Figura 25).

El aparato de Golgi está situado por encima del núcleo y está formado por cisternas paralelas; a nivel de su zona trans, que representa el compartimiento de maduración, se desprenden numerosas vesículas de paredes lisas. En biopsias de mucosa intestinal de sujetos en ayunas, se observan frecuentemente vesículas de distintos tamaños que contienen partículas de lipoproteínas de muy baja densidad (very low density lipoproteins, VLDL) hacia los extremos de las cisternas (Figura 26) (15, 38).

El núcleo de las células epiteliales es ovoide, está situado en la unión del tercio inferior con el tercio medio del cuerpo celular, a la misma altura tanto en las células de las criptas como en las de las vellosidades y contiene un nucléolo voluminoso (Figura 13).

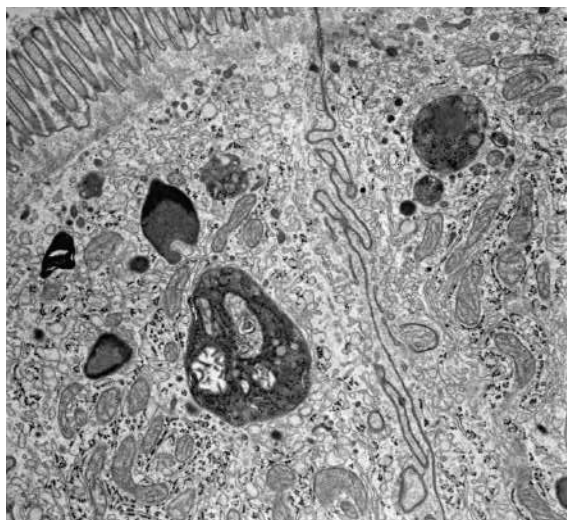


Figura 25. Apice de enterocito del tercio superior de una vellosidad. Se observa un autofagosoma voluminoso, cuyo eje mayor mide unos 2 μm y contiene en su interior mitocondrias con distinto grado de degradación de su estructura así como fragmentos de vesículas y canalículos. En el citoplasma de la misma célula y su vecina hay cuerpos residuales y multivesiculares densos. (Original x 24.000).

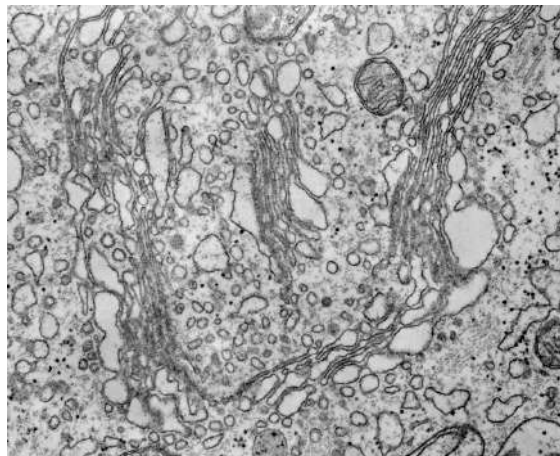


Figura 26. Aparato de Golgi de enterocito. Se observan las cisternas superpuestas y vesículas desprendiéndose de sus extremos maduros. (Original x 57.000).

El núcleo está separado del citoplasma por una cisterna con poros ocluidos por un diaphragma con un botón central.

Por debajo del núcleo el citoplasma situado se caracteriza por la presencia de abundantes mitocondrias alargadas, en estrecha relación espacial con cisternas del retículo endoplásmico granular que las rodean parcialmente en una disposición que recuerda a la que se observa en las células que sintetizan proteínas para exportación (39, 40). En esta zona es posible visualizar evidencias de un activo tránsito de vesículas desde y hacia el corion, la mayoría con una cubierta de clathrina (Figura 27).

En la base de los enterocitos no existe una membrana basal extracelular propiamente dicha sino una lámina basal formada por dos capas: una capa traslúcida sin estructura, de unos 20 nm de espesor, que separa a la membrana plasmática de las células epiteliales de una capa subyacente más profunda y densa, de unos 100 nm de espesor, formada por una malla apretada de filamentos delgados, semejante a un fieltro (Figuras 28a, b y c) (41). La lámina basal sigue estrechamente las sinuosidades de la base de los enterocitos que ocasionalmente envían pseudopodios a través de ella, capaces de penetrar varios micrones al espesor de la lámina propia (Figura 28c).

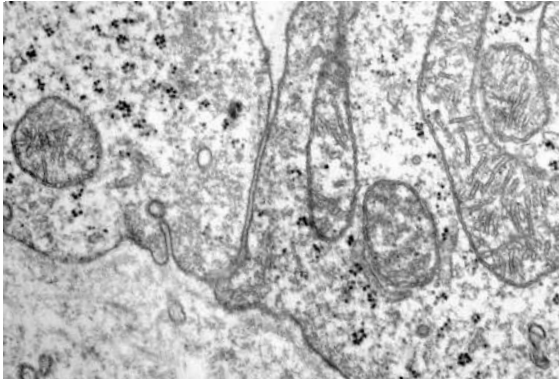


Figura 27. Base de enterocitos. Se observa un canalículo que se origina de la membrana plasmática de la base de la célula de la izquierda y del que se desprende una vesícula con cubierta de clathrina. (Original x 55.000).

La composición de la membrana basal es compleja; algunos de sus componentes son sintetizados por los enterocitos y otros son producidos por los miofibroblastos subyacentes al epitelio. Las moléculas detectadas en la membrana basal incluyen colágeno tipo IV, laminina I, nidógeno/entactina, fibronectina, perlecán, agregán y decorina, siendo las dos primeras las más abundantes; existen también fracciones menores de otros tipos de colágeno (39, 42). Las células epiteliales intestinales están ancladas a la lámina basal mediante complejos moleculares que establecen conexiones entre el citoesqueleto de filamentos intermedios de actina de los enterocitos y el tejido conectivo subyacente y en que participan proteínas específicas: integrinas, talina y vinculina. La lámina basal representa un plano de sustentación que se desplaza conjuntamente con las células epiteliales hacia el ápice de la vellosidad. En el ser humano y la rata las conexiones entre el epitelio y la lámina basal son difusas, pero en el cerdo estas conexiones están localizadas y tienen la apariencia de hemidesmosomas. Cuando los enterocitos se descaaman los componentes de la lámina basal son reciclados en el corion. La lamina basal actúa también como un filtro para células y macromoléculas. Durante la absorción de los triglicéridos se generan en la lámina basal brechas que permiten el paso de los

quilomicrones desde los espacios intercelulares del epitelio hacia el corion, en su tránsito hacia los capilares linfáticos; esto significa que en este proceso probablemente intervendrían enzimas capaces de interrumpir la continuidad de esta estructura (43). Algo parecido ocurre durante el ingreso de linfocitos y neutrófilos al espacio intercelular del epitelio intestinal.

La cripta de Lieberkühn

La células epiteliales de las criptas de Lieberkühn y de las vellosidades, así como los demás tipos de células del epitelio intestinal, se derivan de una única célula madre o de un pequeño número de ellas que residen en las vecindades de las células de Paneth (5, 44). Las células más abundantes en las criptas son elementos inmaduros de forma prismática y algo menos altos que las células maduras de las vellosidades. En su citoplasma apical se observan uno o varios gránulos que se tiñen intensamente y que desaparecen a medida que las células completan su maduración cerca de la base de las vellosidades; estos gránulos contienen a veces estructuras cristalinas y pueden llegar a medir varios micrones de

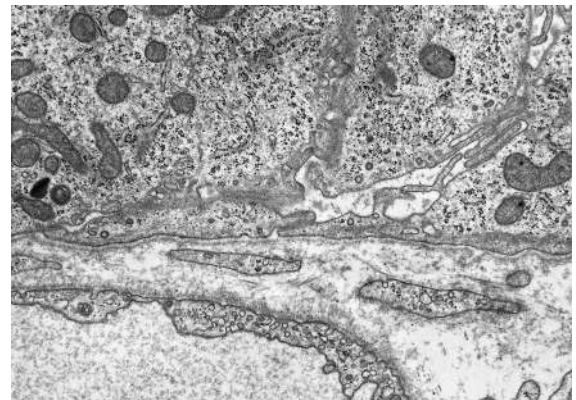


Figura 28a. Vista a bajo aumento de la interfase entre el epitelio intestinal y el corion. La lámina basal del epitelio está formada por una capa translúcida y una densa que siguen el contorno de la base de los enterocitos. Entre la pared del capilar y el epitelio se observan prolongaciones de miofibroblastos. El capilar también tiene una lámina basal. (Original x 12.000).

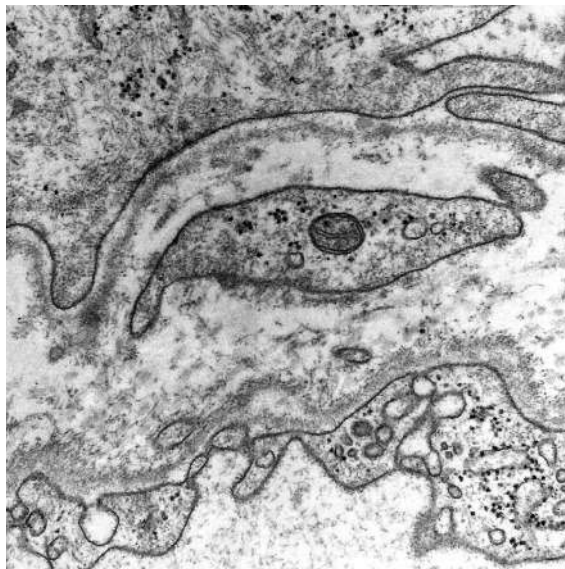


Figura 28b. A mayor aumento la capa densa de la lámina basal tiene una estructura finamente filamentososa. (Original x 42.000).

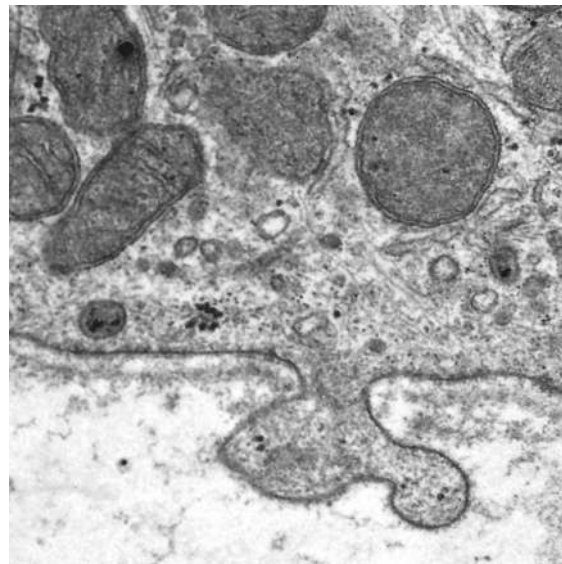


Figura 28c. Pseudopodio de enterocito que penetra a la lámina propia a través de una brecha en la lámina basal. (Original x 38.000).

diámetro. Mientras que en la mucosa intestinal de los roedores el límite entre criptas y vellosidades se puede establecer con exactitud porque está asociado con un cambio evidente de la altura de las células; en los seres humanos este límite no está bien definido aunque puede ser establecido con bastante precisión en cortes histológicos bien orientados. En el tercio medio de las criptas las células indiferenciadas se dividen repetidamente; en el yeyuno de los lactantes aproximadamente 4 por ciento de ellas se encuentran en alguno de los estadios de la mitosis (2).

A la altura de la mitad de las criptas comienzan a aparecer las células caliciformes, cuya teca contiene gránulos de mucus; en el fondo de las criptas hay células de Paneth de forma aproximadamente piramidal y cuyo citoplasma supranuclear característicamente está ocupado por numerosos gránulos densos.

El ribete estriado de las células epiteliales de la cripta está formado por microvellosidades cortas, dispuestas con menor densidad y orden que en las células maduras de las vellosidades. La estructura

de las microvellosidades es similar a la de las células de las vellosidades, pero la malla terminal es poco densa y el complejo de unión intercelular es poco profundo y está menos desarrollado que en las vellosidades; el glicocalix es tenue y delgado. La membrana plasmática intercelular tiene pocas interdigitaciones (45). El citoplasma contiene abundantes ribosomas libres y polisomas, especialmente en la zona basal de las células más inmaduras, donde frecuentemente se observan acúmulos de glicógeno. El aparato de Golgi está poco desarrollado y no contiene lipoproteínas (45). En el citoplasma supranuclear se observa con frecuencia el centro celular, formado por una pareja de centriolos dispuestos en ángulo recto entre sí.

Cuando los enterocitos de las vellosidades sufren daño debido a infecciones o la acción de otros agentes nocivos, las células de las criptas se encargan de su regeneración a través de aumentos de su proliferación. Como la vida media de las células del epitelio intestinal humano es de cinco días aproximadamente, se puede esperar que las capacidades funcionales del epitelio se recuperen dentro de este

plazo, cuando se ha generado una población renovada de células absortivas. Cuando el daño afecta a las células de las criptas en división, por ejemplo por efecto de radiaciones ionizantes o fármacos antitumorales, la célula madre es la encargada de iniciar el proceso reparativo, que puede tener una latencia más prolongada ya que esta célula se divide aproximadamente cada 25 días.

Las células de las criptas juegan un papel importante en el control de la secreción de cloruro y agua, ya que en su membrana plasmática está localizado el mecanismo regulador de la conductancia transmembranosa del transporte de cloruro de la fibrosis quística (CFTR, cystic fibrosis transmembrane regulator) (46). Este mecanismo está alterado en la fibrosis quística.

Las células caliciformes

Dispersas entre las células epiteliales de las criptas y las vellosidades, hay un número variable de células productoras de mucina, las que por su forma de copa reciben el nombre de células caliciformes. El origen de las células caliciformes es la célula madre de la cripta (47). En el tercio superior de las criptas de Lieberkühn algunas de estas células tienen morfologías intermedias entre los elementos celulares indiferenciados y los plenamente maduros: estas células oligomucinosas probablemente representan etapas intermedias del proceso de maduración. Las células caliciformes parecen ser más abundantes en la base que en el tercio distal de las vellosidades, aunque es posible que esto se explique porque estas últimas han descargado su mucina. Estas células migran de manera sincrónica con los enterocitos y se descaman en el ápice de las vellosidades, también con una vida media de aproximadamente 5 días (47).

La característica distintiva de las células caliciformes son los gránulos esféricos de mucina que llenan la teca supranuclear (41). Inmediatamente por debajo de la teca se encuentran el aparato de Golgi, el núcleo celular y por debajo de éste el citoplasma queda reducido a un pie estrecho, intensamente baso-

fílico (1). El mucus se vacía hacia el lumen intestinal en forma de gránulos más o menos aglomerados (Figuras 5 y 6) (1).

El ribete estriado de estas células está formado por microvellosidades escasas, cortas e insertadas irregularmente, cuya continuidad puede estar interrumpida por invaginaciones más o menos profundas que corresponden a espacios ocupados por gránulos de mucina que han sido vertidos al lumen intestinal (48, 49). Los gránulos maduros de mucina miden hasta 3 μm de diámetro, están dispuestos apretadamente en la teca y cada uno de ellos está rodeado por una membrana trilaminar (Figuras 29 y 30).

Entre los gránulos hay láminas delgadas de citoplasma con ribosomas y vesículas del retículo endoplásmico; es posible que estos segmentos de citoplasma sean secretados al lumen intestinal junto con la mucina (45). La pared de la teca misma es delgada y su citoplasma contiene los organelos propios de una célula eucariota. Entre la teca y el núcleo celular hay un aparato de Golgi voluminoso en el que comien-

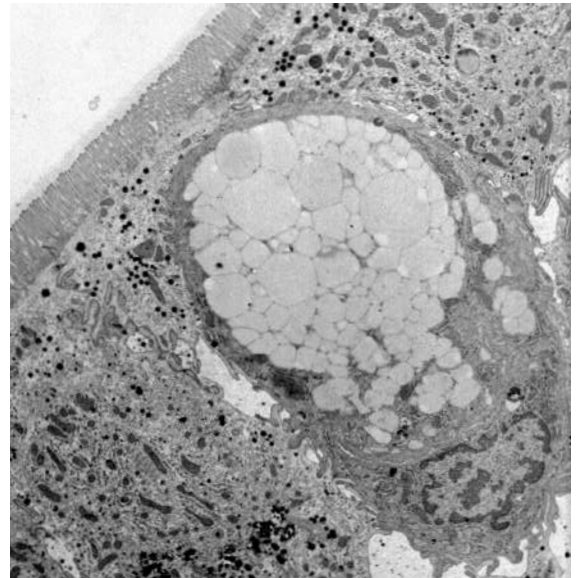


Figura 29. Célula caliciforme. Los gránulos de mucus se comienzan a formar en el aparato de Golgi, en la base de la teca cuya pared es densa y delgada. El citoplasma perinuclear es denso debido a la presencia de abundante retículo endoplásmico. (Original x 4.000).

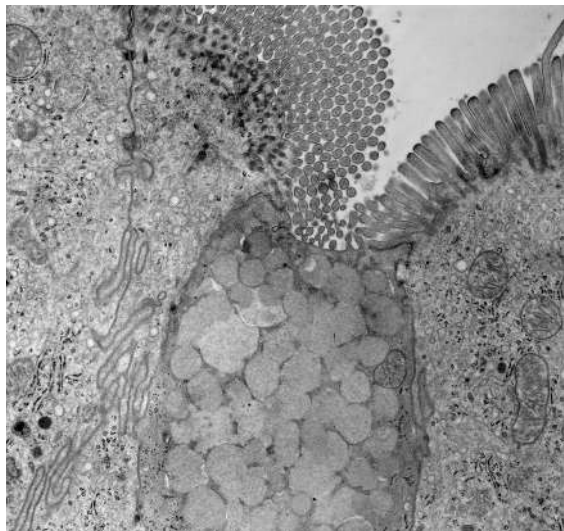


Figura 30. Ostium y parte de la teca de una célula caliciforme a mayor aumento. Se observan la capa delgada y densa de citoplasma de la teca y los gránulos de mucus de distinto tamaño y densidad; entre ellos hay pequeñas láminas de citoplasma. (Original x 30.000).

za a acumularse la mucina con un aspecto que es inicialmente poco denso pero que progresivamente se va condensando hasta formar los gránulos maduros; la membrana que los rodea proviene de la cara madurativa del aparato de Golgi (45). Antes de ser secretados hacia el exterior, los gránulos aumentan de volumen y se vuelven menos compactos.

Estudios de autoradiografía con glucosa, fucosa o sus derivados acetilados o aminados marcados con tritio, han demostrado que la síntesis de la mucina se inicia en el retículo endoplásmico del pie de las células y continúa en el aparato de Golgi en un proceso que en la rata demora tres a cuatro horas en alcanzar la teca; en el ser humano este proceso dura unas cuatro veces más (50-52). En la salida de los gránulos de mucina participan microtúbulos que mantienen la organización espacial del complejo secretor (53, 54).

El citoplasma del pie de la célula caliciforme, situado por debajo del núcleo, está ocupado por abundantes mitocondrias y cisternas del retículo endoplásmico

granular, con la disposición característica de las células que sintetizan proteínas para exportación (41). Las funciones de la mucina incluyen la lubricación y humidificación de la superficie de la mucosa intestinal, servir de residencia y fuente de energía para la microbiota del íleon y el colon, y actuar como barrera mecánica para algunos microorganismos, incluyendo los enteropatógenos. En la estructura de sus moléculas existen secuencias que representan falsos receptores que bloquean la adherencia de las bacterias a los enterocitos. Además, la mucina puede aglutinar células descamadas, bacterias y restos alimenticios formando grumos que por su tamaño estimulan el peristaltismo y su movilización en dirección aboral (55). La inmunoglobulina A secretoria, y probablemente también las inmunoglobulinas M y G se concentran en la capa de mucina cercana a las microvellosidades creando un mecanismo efectivo de defensa en la superficie de la mucosa. Es posible que algunos estímulos, como las reacciones antígeno-anticuerpo que ocurren en las vecindades de la mucosa intestinal, induzcan aumentos de la secreción de mucus por las células caliciformes (56).

El sistema de células enteroendocrinas

Las células enteroendocrinas son elementos aislados y dispersos a lo largo del tubo digestivo, desde el estómago hasta las vecindades del ano; son morfológicamente variadas dependiendo de sus productos de secreción y la suma de ellas representa el órgano endocrino más voluminoso del organismo (57). Estas células sintetizan péptidos y moléculas fisiológicamente activas que ejercen acciones endocrinas, paracrinas o autocrinas fundamentales para el funcionamiento normal del tubo digestivo y del organismo. Las células enteroendocrinas tienen forma aproximadamente piramidal y su base generalmente está en contacto con la lámina basal del epitelio; el ápice es estrecho y su ribete estriado está poco desarrollado, con microvellosidades escasas y de largo variable; la malla terminal es casi inexistente. Las células enteroendocrinas están unidas a los en-

terocitos vecinos por complejos de unión y su citoplasma es poco denso y contiene un complemento normal de organelos. Alrededor del núcleo se observa frecuentemente una zona de citoplasma rica en filamentos delgados. Cada tipo de célula enteroendocrina produce uno o a lo más dos o tres tipos de péptidos bioactivos que son empaquetados en gránulos con morfología característica, que se acumulan principalmente entre el núcleo y la membrana plasmática de la base (Figuras 31a y b).

Su estudio mediante técnicas de inmunocitoquímica y microscopía electrónica permitió establecer corre-

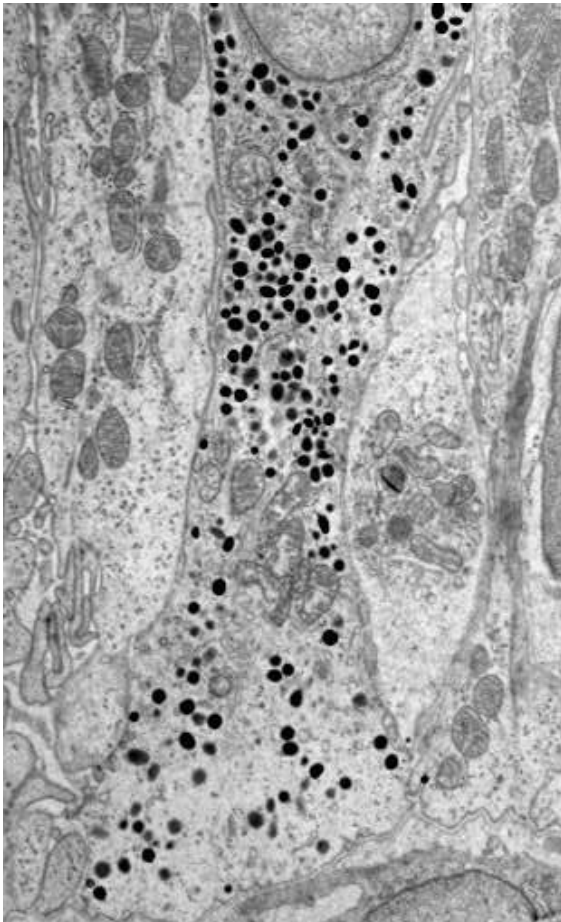


Figura 31a. Pie de célula entero-endocrina. Por debajo del núcleo hay abundantes gránulos de secreción con distinta forma y densidad. (Original x 7.200).

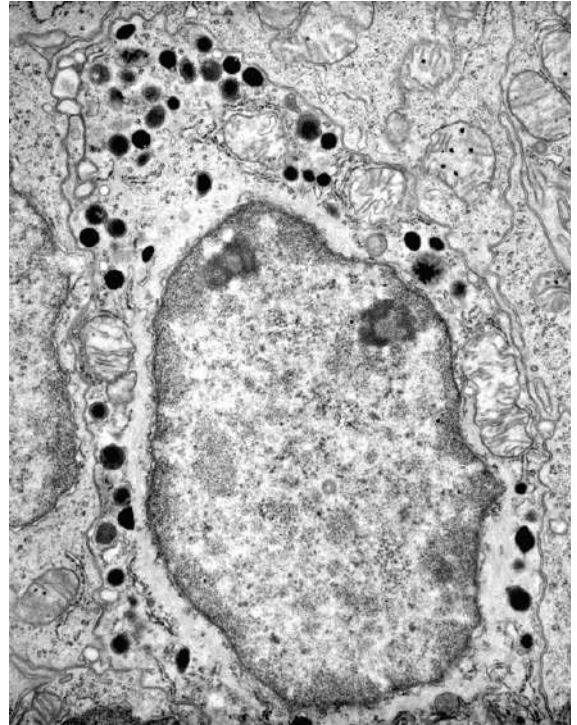


Figura 31b. Corte transversal de célula entero-endocrina. El núcleo está rodeado por una franja de filamentos delgados y poco teñidos. Los gránulos de secreción tienen distinta morfología: esféricos, esféricos con nucleóide y biconvexos. Probablemente corresponde a una célula G. (Original x 23.000).

laciones entre su morfología y las moléculas sintetizadas (57, 58). La descarga de su secreción es muy rápida ya que en biopsias de mucosa intestinal de humanos, incluso si han sido fijadas tan pronto se extrae el mecanismo con la muestra de tejido, éstos ya han sido descargados hacia el espacio entre el citoplasma de la célula y la lámina basal.

La siguiente es una lista de péptidos bioactivos identificados en este tipo de células (Tabla 1). Hay que tener en cuenta que cada uno de estos tipos celulares tiene una distribución propia a lo largo del tubo digestivo y que deben existir isoformas de los distintos péptidos, las que también pueden tener distribuciones características. Entre los mecanismos que desencadenan la secreción de estos péptidos se cuentan el tipo y densidad de los nutrientes presentes en el lumen intestinal, las concentraciones de

Tipos de célula	Péptido/amina sintetizados	Morfología de los gránulos
EC	Serotonina	Variable; pueden tener centro denso
EC1	Sustancia P	Similares a los gránulos de las células EC
S	Secretina	Redondeados, con halo; 0,2 μm
G	Gastrina, varias formas moleculares	En el antro gástrico. Densos, redondeados
CCK	Colecistoquinina	Redondeados, densos; 250 μm de diámetro
GIP	Polipéptido inhibidor gástrico	Redondeados, capas concéntricas, 0,2–0,3 μm
L	Péptido similar al glucagón, varias formas moleculares (GLP, glucagón-like peptide)	Redondeados, densos, tamaño variable
L	Péptido YY	Redondeados, densos, tamaño variable; cantidades pequeñas en páncreas y en neuronas
D	Somatostatina	Redondeados, muy densos, tamaño variable hasta 350 μm
N	Neurotensina	Redondeados, densos, 350 μm
X-like o A-like	Ghrelina	Redondeados o lenticulares, 200 μm
M ó Mo	Motilina	Redondeados, intestino alto; la eritromicina se une a su receptor

Tabla 1. Células enteroendocrinas en el tubo digestivo.

electrolitos, variaciones del pH, cambios de la osmolaridad y la presencia de otras moléculas bioactivas en la pared del tubo digestivo, en su contenido o en el lumen, así como diversos estímulos nerviosos y mecánicos.

Esta multiplicidad de péptidos hormonales y reguladores es un índice de la complejidad e importancia de este sistema para las funciones del tubo digestivo. También refleja la complejidad de las funciones de cada uno de los segmentos del aparato digestivo y de su integración tanto a nivel local como con el resto del organismo.

Estudios clínicos en seres humanos y en animales de experimentación han puesto en evidencia los

efectos asociados con el exceso o la deficiencia de la secreción o la actividad de algunas de estas hormonas. La vagotomía produce hipersecreción de colecistoquinina y aumentos de los niveles de gastrina en la sangre, aunque los niveles más altos de gastrina son detectados en el síndrome de Zollinger-Ellison, que es causado por tumores de las células G; estos pacientes frecuentemente también tienen aumentos de la secretina plasmática. La harina de soya no lixiviada con agua, contiene un inhibidor de la tripsina que induce aumentos de la secreción de colecistoquinina; esto indica que factores presentes en la dieta pueden modular la secreción de algunas de las hormonas producidas por las células enteroendo-

crinas. En los pacientes colonizados por *H. pylori* se producen disminuciones de la somatostatina plasmática, hormona producida también por las células G. La secreción de ghrelina, otra hormona de este sistema, está aumentada en la anorexia nerviosa y en el síndrome de Prader-Willi y, por el contrario, está disminuida en la obesidad. La secreción excesiva del polipéptido intestinal vasoactivo (Vasoactive Intestinal Polypeptide, VIP por sus iniciales en inglés) está asociada con aumentos considerables de la secreción de agua, cloruro y bicarbonato a nivel de las criptas de Lieberkühn y se manifiesta por una copiosa diarrea acuosa. Los niveles plasmáticos de motilina están disminuidos en la gastroparesia idiopática y están aumentados en el cólico infantil y en algunos pacientes con diabetes mellitus o con el síndrome de Zollinger-Ellison. El péptido YY está disminuido en la obesidad y, por el contrario, está aumentado en la malabsorción de lípidos y en el síndrome de dumping postgastrectomía y en patologías como la enfermedad celíaca, la contaminación bacteriana masiva de segmentos del intestino delgado alto y en las resecciones intestinales extensas. Adicionalmente, en los pacientes celíacos disminuye la liberación de secretina (59, 60, 60b). La descripción de estas alteraciones enteroendocrinas pone en evidencia su trascendencia en el funcionamiento normal del organismo (61).

Células epiteliales especializadas

Células M

En la superficie luminal de los folículos linfáticos solitarios y de las placas de Peyer, hay células aisladas denominadas células M, también llamadas células epiteliales asociadas con los folículos linfáticos, que se caracterizan por su morfología distintiva ya que su ribete estriado está formado por unos pocos pliegues y microvellosidades, su citoplasma tiene forma de U invertida y en su concavidad, llamada bolsillo, que está orientada hacia la base del epitelio, se alojan linfocitos, células dendríticas y macrófagos (61). En la base de estas células, en contacto con la mem-

brana basal, los brazos de la U son más gruesos que el citoplasma en contacto con la superficie luminal y el núcleo generalmente está localizado en un pie de célula (62). Las células M no se observan ni en las vellosidades intestinales ni en las criptas; se cree que participan en el transporte de antígenos hacia las células encargadas de las etapas iniciales de las respuestas inmunes. En la membrana plasmática luminal de estas células habría áreas específicas para la captación de algunos antígenos (63) y adicionalmente proteínas, bacterias y virus que son incorporados a vesículas endocíticas en la membrana plasmática luminal y transportados a prelisosomas y lisosomas. Allí sus antígenos son procesados y sus epítopes son presentados a las células dendríticas y los macrófagos del bolsillo o a los linfocitos presentes en el epitelio que recubre los folículos linfáticos o a aquellos que están en el corion de la mucosa (64) para iniciar las respuestas inmunes (65-67). El origen de las células M no se conoce pero probablemente se derivan de las células madres de las criptas; su vida media sería similar a la de las demás células epiteliales que recubren los folículos (68).

Células caveoladas y células en copa

Las células caveoladas, llamadas también células multivesiculares, se caracterizan por tener altura normal pero con un ápice estrecho cuyo ribete estriado está formado por microvellosidades escasas, más largas y gruesas que las de los enterocitos maduros y cuyas raíces de actina penetran en el citoplasma hasta las proximidades del aparato de Golgi (69). Entre las raíces frecuentemente hay microtúbulos y caveolas dispuestas en línea (que dan su nombre a estas células); las caveolas contienen un material filamentoso parecido al glicocáliz (Figura 32) (70, 71). Estas células están presentes en forma aislada en todo el intestino delgado y migrarían desde las criptas hacia las vellosidades pero su velocidad de recambio es de aproximadamente 8 días y se estima que se originan también de las células madres (72). Su función no se conoce con precisión pero se cree que serían receptores unicelulares de

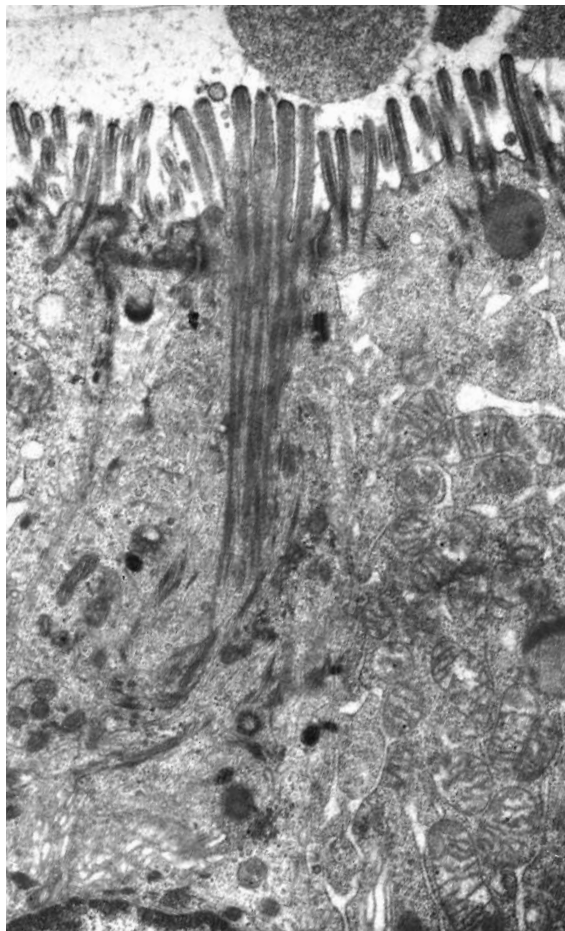


Figura 32. Célula caveolada en una cripta intestinal; se caracteriza por sus microvellosidades escasas y gruesas insertadas en un ápice celular estrecho; sus raíces llegan a la proximidad del aparato de Golgi y del núcleo. Se observa un centriolo. (Original x 21.000).

sabor y formarían parte de un sistema de señalización que comparte mecanismos eferentes con las papilas gustatorias, que representarían la parte “evidente” de este sistema sensorial; las células caveoladas representan un componente “oculto”, difuso y primitivo del sentido del gusto; también están presentes en las vías respiratorias altas y en los bronquios. Este sistema oculto tal vez no tendría la capacidad de análisis preciso característico de las papilas linguales, pero sería capaz de transmitir información

al sistema nervioso central (73-75).

Las células en copa también son poco abundantes y han sido observadas en el íleon de conejos y cobayos. Se caracterizan porque las microvellosidades de la periferia de su ribete estriado son más largas que las que ocupan la parte central, lo que da origen a la característica concavidad de que se deriva su nombre (76). Tienen una malla terminal poco estructurada y la matriz de sus mitocondrias es densa, con dilatación de los espacios intramembranosos de sus crestas (76, 77). Las células en copa sintetizan vimentina, una de las proteínas que junto con la actina forman parte de los filamentos intermedios y son constituyentes del citoesqueleto de las células eucariotas (78).

El origen y función de las células en copa se desconoce y se especula que podrían ser sensores de las condiciones del lumen intestinal, ya que no tienen la capacidad de transportar partículas, que caracteriza a las células M ni, al igual que las células caveoladas, de absorber lípidos. Las células en copa podrían ser, sin embargo, simples variantes de los enterocitos.

Las células de Paneth

En el fondo de las criptas de Lieberkühn, tanto del ser humano como en otras especies de mamíferos (ratas, ratones, cobayos y hamsters) hay 15 – 25 células de Paneth, caracterizadas por su forma de pirámide truncada y por sus abundantes gránulos de 1-2 μm de diámetro que ocupan la mayor parte del citoplasma supranuclear (Figura 33a).

Estas células están ausentes en el intestino de cerdos, gatos y perros sin que exista certeza acerca de las células que reemplazarían sus funciones (79). El ribete estriado de las células de Paneth es delgado y poco denso y el núcleo es voluminoso, esférico y tiene un nucléolo central. En las tinciones con hematoxilina-eosina, el citoplasma situado por debajo de la parte ocupada por los gránulos es fuertemente basófilo, lo que se debe a la abundancia de retículo endoplásmico granuloso y de ribosomas libres. Las células de Paneth se observan sólo muy ocasionalmente en mitosis y en estudios en ratones, usando

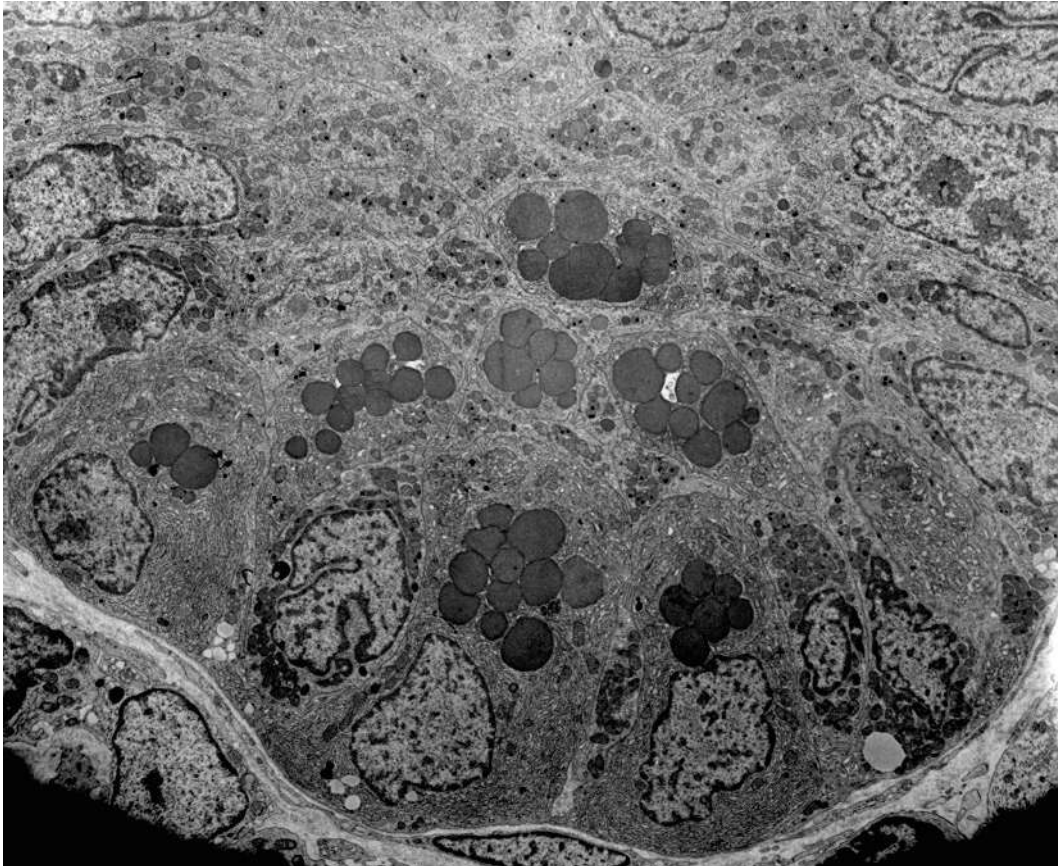


Figura 33a. Fondo de cripta de Lieberkühn con varias células de Paneth con sus gránulos característicos. Por fuera de las cripta, se observan algunas células de la capa de miofibroblastos y sus prolongaciones que rodean a la cripta. (Original x 3.000).

timidina tritiada aparecen marcadas sólo después de 48 horas de inyección continua (80). Las células de Paneth se originan de las células madres, su recambio es lento y su supervivencia es de 20 a 25 días (80). En el límite entre las células de Paneth y las células epiteliales indiferenciadas de la cripta se observan formas inmaduras, con gránulos pequeños y escasos (81).

En observaciones con el microscopio electrónico, el ribete estriado es ralo y la mitad distal del citoplasma está ocupada por los gránulos característicos, cada uno de ellos rodeado por una membrana; en el ser humano los gránulos tienen estructura homogénea (Figura 33b), en tanto que en los ratones cada

uno está rodeado por un halo translúcido situado inmediatamente por debajo de su membrana y tiene además un nucleoide central denso. Los gránulos son sintetizados en el retículo endoplásmico granular, en estrecha asociación con las mitocondrias y las cisternas del aparato de Golgi (82). La administración de pilocarpina estimula su vaciamiento al lumen de las criptas, que es inhibido por la administración previa de atropina (81).

Los gránulos de las células de Paneth contienen enzimas bactericidas, tales como la lisozima, y péptidos de la familia de las defensinas, denominados criptidinas, que han sido identificados también en el lumen de las criptas de Lieberkühn (83, 85). Las

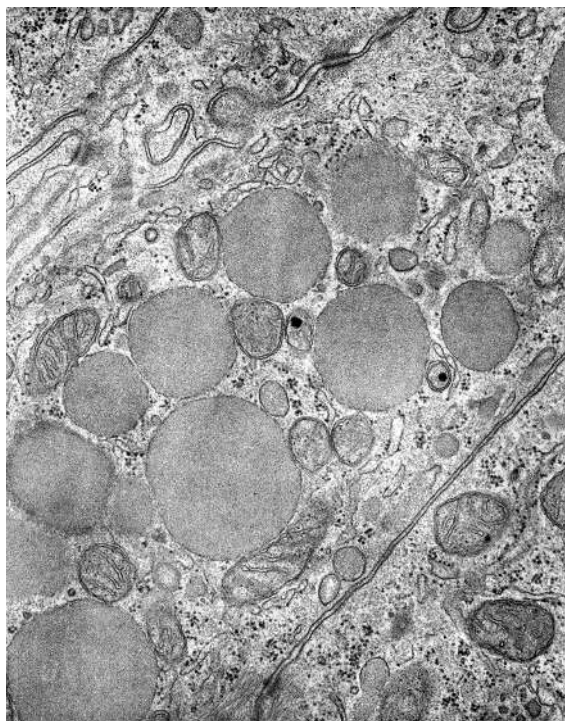


Figura 33b. Gránulos de célula de Paneth a mayor aumento; cada uno de ellos está rodeado por una membrana única y su estructura es homogénea. (Original x 38.000).

defensinas son antibióticos endógenos cuya actividad microbicida está dirigida tanto contra bacterias gram positivas y negativas como también contra hongos, virus y protozoos (85-87).

La importancia de la maduración funcional de las células de Paneth queda demostrada por el hecho de que al nacer los ratones, son susceptibles a la infección por *Shigella*, en tanto que a la semana de vida, una vez que estas células han alcanzado la madurez, los animales se vuelven refractarios a este agente (93). Teniendo en cuenta estos hallazgos y las capacidades bactericidas de sus péptidos y enzimas, se ha propuesto que un papel importante de las células de Paneth sería proteger la integridad de las células madres de las criptas de Lieberkühn. Otras funciones de estas células son regular la composición y densidad de las poblaciones de microorganismos

que colonizan el tubo digestivo y proteger al huésped de los enteropatógenos (88). También serían capaces de detectar y diferenciar a los microorganismos comensales y de mantener la homeostasis en la interfase huésped-bacterias a nivel del intestino, limitando la penetración de la mucosa por bacterias (89). Estudios en ratas demostraron que sus células de Paneth tienen la capacidad de internalizar y destruir en su citoplasma bacterias y protozoos (90, 91). El número de células de Paneth va aumentando desde el duodeno hacia los segmentos más distales, lo que puede estar relacionado con los recuentos de bacterias más elevados en los segmentos más próximos a la válvula ileocecal; el repertorio de péptidos antimicrobianos que estas células sintetizan, va cambiando dependiendo del segmento intestinal investigado (92).

Existe una creciente cantidad de información que asocia la génesis de las enfermedades inflamatorias del tubo digestivo, con alteraciones de las células de Paneth. La exploración de estos aspectos abre la posibilidad de intervenir en la patogenia y evolución de estas enfermedades (88, 94-99).

La lámina propia de la mucosa intestinal

La lámina propia de la mucosa sirve de soporte al epitelio intestinal y al mismo tiempo le proporciona circulación sanguínea y venosa y una rica inervación autónoma; en él residen miofibroblastos que forman un armazón que da forma y sustento a las criptas y vellosidades. Estas son células de forma estrellada que con sus prolongaciones arman verdaderas redes en que entran en contacto entre sí. Además, estas células propias del tejido conectivo están encargadas de sintetizar algunas moléculas de la lámina basal del epitelio y diversos tipos de fibras colágenas (Figuras 34a y b).

De las células del aparato inmunitario predominan en la lámina propia los linfocitos y las células plasmáticas. Estas últimas se caracterizan por el considerable desarrollo de su aparato de Golgi adosado al núcleo (Figura 35). Los linfocitos son células peque-

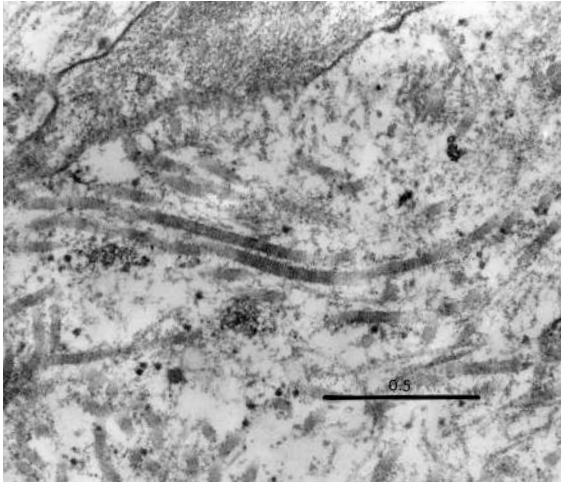


Figura 34a. Fibras y filamentos en el tejido conectivo de la lámina propia. Se observan fibras de colágeno tipo I con su periodicidad característica. Los filamentos más delgados probablemente corresponden a colágeno tipo IV y las estructuras redondeadas, densas, a placas de anclaje. (Original x 105.000).

ñas, con mitocondrias y ocasionalmente gránulos de inclusión, también pequeños y núcleo proporcionalmente voluminoso. Otras células fácilmente identificables son los eosinófilos con sus gránulos fusiformes con un cristal central en su eje mayor (Figura 36).

En las vecindades de los vasos sanguíneos es frecuente observar la presencia de células cebadas (mastzellen) cuyos gránulos característicos almacenan sustancias como la heparina y la histamina, así como otros compuestos que intervienen en la génesis de los síntomas de las reacciones alérgicas. Estos gránulos semejan rollos de láminas formadas por túbulos muy delgados dispuestos uno al lado del otro, y arrolladas sobre si mismas. La figura 37a muestra una de estas células y la figura 37b muestra las inclusiones a mayor aumento.

La vascularización capilar sanguínea aparece en la figura 38, que ilustra la estructura típica de uno de estos vasos, con su pared con poros que miran hacia la base del epitelio. En la figura 8 del capítulo sobre absorción de grasas, se puede observar parte de la pared de un capilar linfático, que transporta quilomicrones y que presenta apertura de sus uniones intercelulares y ausencia de membrana basal.

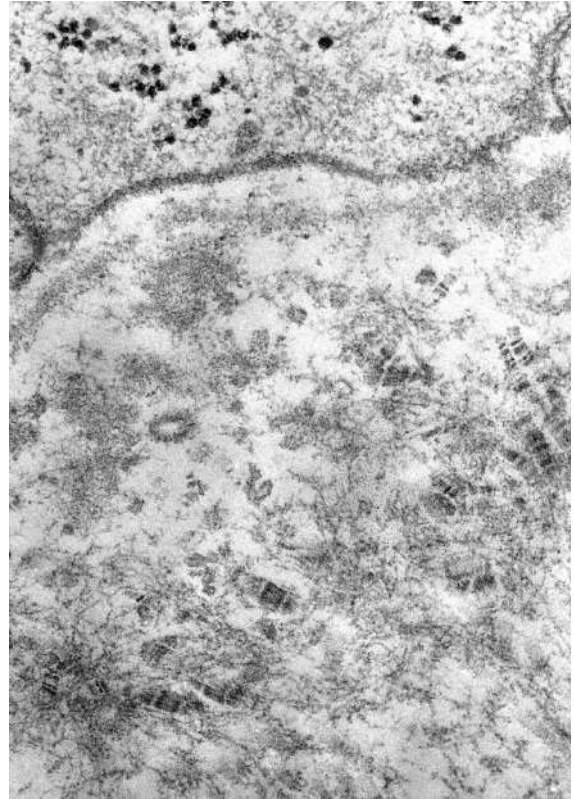


Figura 34b. Fibras y filamentos en el tejido conectivo de la lámina propia. Se observan fibras gruesas con periodicidades distintas a las del colágeno tipo I que pueden corresponder a colágeno tipo III; los filamentos delgados pueden corresponder a colágeno tipo IX y las estructuras delgadas, ramificadas, pueden ser moléculas de laminina. (Original x 175.000).

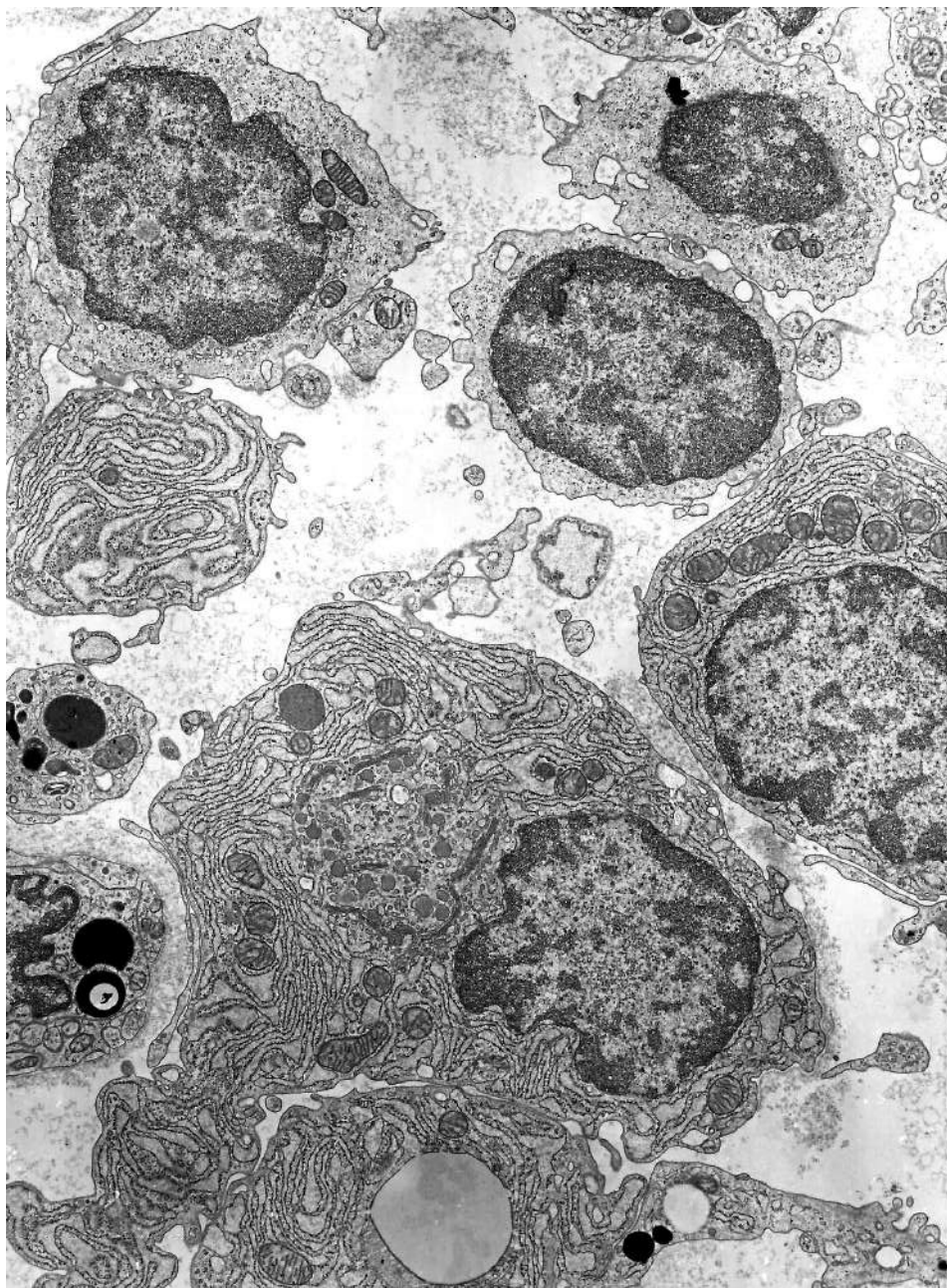


Figura 35. Linfocitos y células plasmáticas en el corion de la mucosa. Las células plasmáticas tienen un aparato de Golgi muy desarrollado y abundante retículo endoplásmico dispuesto en cisternas paralelas que llenan su citoplasma. Los linfocitos son células pequeñas, con un núcleo voluminoso y escaso citoplasma con pocos organelos. (Original x 4.900).

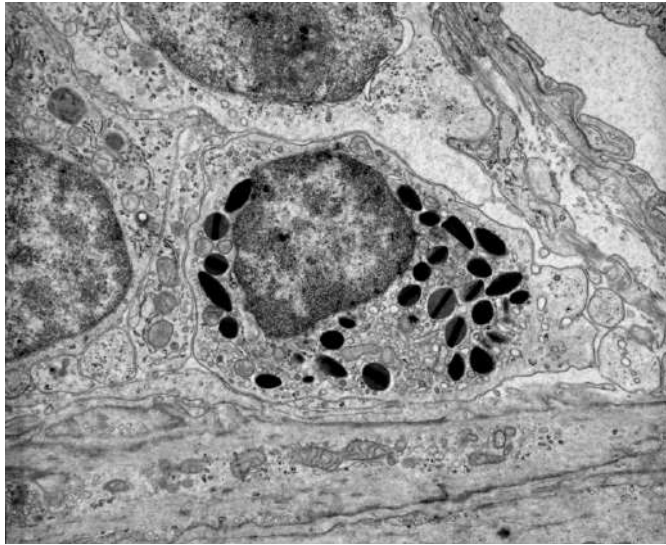


Figura 36. Eosinófilo en la lámina propia de una vellosidad; se observan sus gránulos citoplasmáticos característicos. (Original x 8.000).

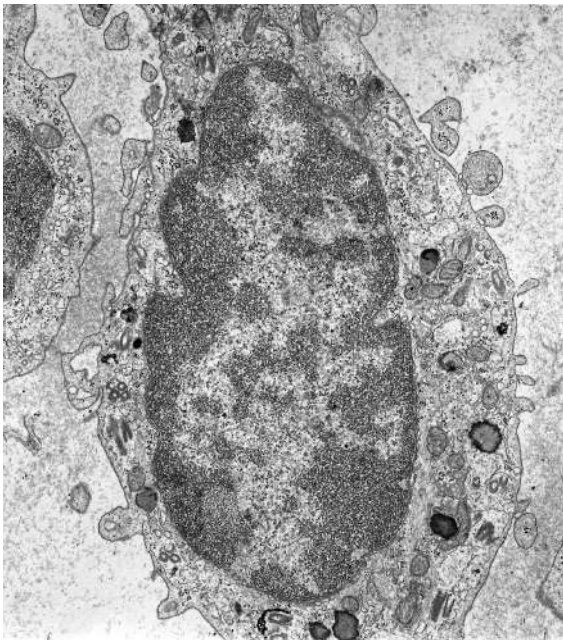


Figura 37a. Célula cebada en el eje conectivo de una vellosidad. Se observan algunas inclusiones laminares y como cilindros enrollados. (Original x 9.000).

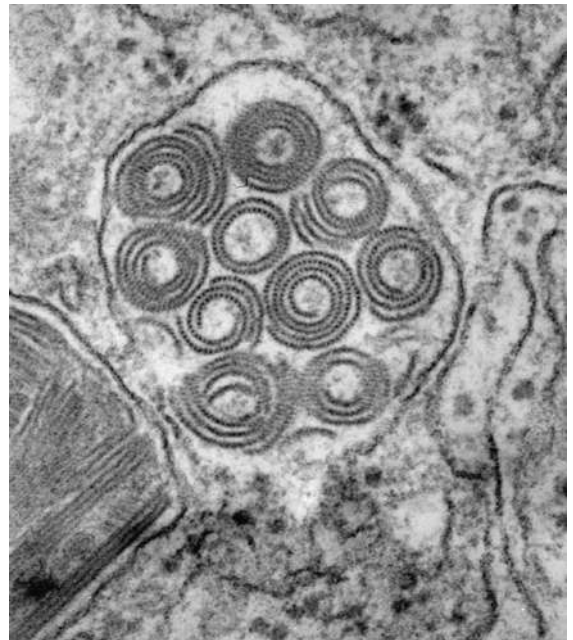


Figura 37b. Gránulos de una célula cebada a mayor aumento. Se observa el "enrollamiento concéntrico" de los túbulos organizados en láminas. (Original x 204.000).



Figura 38. Capilar sanguíneo. Se observa el cuerpo celular y el núcleo de un endoteliocono; la pared del capilar está formada por cuatro células y presenta numerosos poros. La lámina basal que se bifurca para incluir dos fibras musculares lisas. En el espacio intercelular alrededor del capilar, hay quilomicrones de distinto tamaño y densidad. (Original x 11.000).

Referencias

1. Color Atlas of Cytology, Histology and Microscopic Anatomy. W. Kuehnel. 4ª edición. Stuttgart: Thieme. 2003.
2. Brunser O, Reid A, Monckeberg F, Maccioni A, Contreras I. Jejunal mucosa in infant malnutrition. *Am J Clin Nutr* 1968; 21: 976-83.
3. Palay SL, Karlin LJ. An electron microscopic study of the intestinal villus. I. The fasting animal. *J Biophys Biochem Cytol* 1959; 5: 363-72.
4. Potten CS, Gandara R, Mahida YR, Loeffler M, Wright NA. The stem cells of small intestinal crypts: where are they? *Cell Prolif*. 2009 Sep 28. [Epub ahead of print]
5. Scoville DH, Sato T, He XC, Li L. Current view: intestinal stem cells and signaling. *Gastroenterology*. 2008; 134: 849-64.
6. Brunser O, Luft HJ. Fine structure of the apex of absorptive cell from rat small intestine. *J Ultrastruct Res* 1970; 31: 291-311.
7. Bretscher A, Weber K. Localization of actin and microfilament-associated proteins in the microvilli and terminal web of the intestinal brush border by immunofluorescence microscopy. *J Cell Biol*. 1978; 79: 839-45.
8. Matsudaira P, Mandelkow E, Renner W, Hesterberg LK, Weber K. Role of fimbrin and villin in determining the interfilament distances of actin bundles. *Nature* 1983; 301: 209-14.
9. Heintzelman MB, Mooseker MS. Assembly of the intestinal brush border cytoskeleton. *Curr Top Dev Biol*. 1992; 26: 93-122.
10. Coluccio LM, Bretscher A. Reassociation of microvillar core proteins: making a microvillar core in vitro. *J Cell Biol*. 1989; 108: 495-502.
11. Holmes R, Lobley RW. Intestinal brush border revisited. *Gut* 1989; 30: 1667-78.
12. Niessen CM, Gottardi CJ. Molecular components of the adherens junction. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 562-71.
13. Molecular biology of the cell. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walker P, editores. 5ª edición. Nueva York: Nueva York, Garland Science 2008.
14. Binder HJ, Sandle GI. Electrolyte transport in the mammalian colon. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 3ª edición. LR Johnson, editor. Nueva York: Raven Press. 1994; 2133-71.
15. Madara JL, Trier JS. The functional morphology of the mucosa of the small intestine. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 3ª edición. LR Johnson, editor. Nueva York: Raven Press. 1994; 1577-1622.
16. Farquhar MG, Palade GE. Junctional complexes in various epithelia. *J Cell Biol* 1963; 17: 375-412.
17. Hervé, J-C. The apical junctional complexes: composition, structure, and characteristics. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 59-61.
18. Paris L, Tonutti L, Vannini C, Bazzoni G. Structural organization of the tight junction. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 646-59.
19. Chiba, H, Osanai M, Murata M, Kojima T, Sawada N. Transmembrane proteins of tight junctions. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 588-600.

20. Schulzke JD, Bentzel CJ, Schulzke I, Riecken EO, Fromm M. Epithelial tight junction structure in the jejunum of children with acute and treated celiac sprue. *Pediatr Res* 1998; 43: 435-41.
21. Saitou M, Furuse M, Sasaki H, Schulzke JD, Fromm M, Takano H, Noda T, Tsukita S. Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol Biol Cell*. 2000; 11: 4131-42.
22. Konrad M, Schaller A, Seelow D, Pandey AV, Waldegger S, Lesslauer A, Vitzthum H, Suzuki Y, Luk JM, Becker C, Schlingmann KP, Schmid M, Rodriguez-Soriano J, Ariceta G, Cano F, Enriquez R, Juppner H, Bakkaloglu SA, Hediger MA, Gallati S, Neuhauss SC, Nurnberg P, Weber S. Mutations in the tight-junction gene claudin 19 (CLDN19) are associated with renal magnesium wasting, renal failure, and severe ocular involvement. *Am J Hum Genet* 2006; 79: 949-57.
23. Colegio OR, Van Itallie CM, McCrea HJ, Rahner C, Anderson JM. Claudins create charge-selective channels in the paracellular pathway between epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 283: C142-C147.
24. Riazuddin S, Ahmed ZM, Fanning AS, Lagziel A, Kitajiri S, Ramzan K, Khan SN, Chattaraj P, Friedman PL, Anderson JM, Belyantseva IA, Forge A, Riazuddin S, Friedman TB. Tricellulin is a tight-junction protein necessary for hearing. *Am J Hum Genet* 2006; 79: 1040-51.
25. Ebnet K, Suzuki A, Horikoshi Y, Hirose T, Meyer Zu Brickwedde MK, Ohno S, Vestweber D. The cell polarity protein ASIP/PAR-3 directly associates with junctional adhesion molecule (JAM). *EMBO J* 2001; 20: 3738-48.
26. Ebnet K, Aurrand-Lions M, Kuhn A, Kiefer F, Butz S, Zander K, Meyer zu Brickwedde MK, Suzuki A, Imhof BA, Vestweber D. The junctional adhesion molecule (JAM) family members JAM-2 and JAM-3 associate with the cell polarity protein PAR-3: a possible role for JAMs in endothelial cell polarity. *J Cell Sci* 2003; 116 (Pt 19): 3879-91.
27. Weber C, Fraemohs L, Dejana E. The role of junctional adhesion molecules in vascular inflammation. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 467-77.
28. Boller K, Vestweber D, Kemler R. Cell-adhesion molecule uvomorulin is localized in the intermediate junctions of adult intestinal epithelial cells. *J Cell Biol* 1985; 100: 327-32.
29. Watanabe M, Nagafuchi A, Tsukita S, Takeichi M. Induction of polarized cell-cell association and retardation of growth by activation of the E-cadherin-catenin adhesion system in a dispersed carcinoma line. *J Cell Biol* 1994; 127: 247-56.
30. Drees F, Pokutta S, Yamada S, Nelson WJ, Weis WI. Alpha-catenin is a molecular switch that binds E-cadherin-beta-catenin and regulates actin-filament assembly. *Cell* 2005; 123: 903-15.
31. Alemà S, Salvatore AM. p120 catenin and phosphorylation: Mechanisms and traits of an unresolved issue. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 47-58.
32. Wuchter P, Boda-Heggemann J, Straub BK, Grund C, Kuhn C, Krause U, Seckinger A, Peitsch WK, Spring H, Ho AD, Franke WW. Processus and recessus adhaerentes: giant adherens cell junction systems connect and attract human mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Res* 2007; 328: 499-514.
33. Garrod D, Chidgey M. Desmosome structure, composition and function. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 572-87.

34. Kelly DE. Fine structure of desmosomes, hemidesmosomes, and an adepidermal globular layer in developing newt epidermis. *J Cell Biol* 1966; 28: 51-72.
35. Rayns DG, Simpson FO, Ledingham JM. Ultrastructure of desmosomes in mammalian intercalated disc; appearances after lanthanum treatment. *J Cell Biol* 1969; 42: 322-26.
36. Kimura TE, Merritt AJ, Garrod DR. Calcium-independent desmosomes of keratinocytes are hyper-adhesive. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 775-81.
37. Norgett EE, Hatsell SJ, Carvajal-Huerta L, Cabezas JC, Common J, Purkis PE, Whittock N, Leigh IM, Stevens HP, Kelsell DP. Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin-intermediate filament interactions and causes dilated cardiomyopathy, woolly hair and keratoderma. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 2761-66.
38. Brunser O, Castillo C, Araya M. Fine structure of the small intestinal mucosa in infantile marasmic malnutrition. *Gastroenterology* 1976; 70: 495-507.
39. Thiéry G, Gaffiero P, Bergeron M. Three-dimensional characteristics of the endoplasmic reticulum in the columnar cells of the rat small intestine: an electron microscopy study in thick section. *Am J Anat* 1983; 167: 479-93.
40. Jeynes BJ, Altmann GG. A region of mitochondrial division in the epithelium of the small intestine of the rat. *Anat Rec.*1975; 182: 289-96.
41. Fawcett DW. *The cell*. 2ª edición. Filadelfia: WB Saunders Co. 1981.
42. Verbeke S, Gotteland M, Fernández M, Bremer J, Ríos G, Brunser O. Basement membrane and connective tissue proteins in intestinal mucosa of patients with coeliac disease. *J Clin Pathol* 2002; 55: 440-45.
43. Cardell RR Jr, Badenhausen S, Porter KR. Intestinal triglyceride absorption in the rat. An electron microscopical study. *J Cell Biol* 1967; 34: 123-55.
44. Bjerknes M, Cheng H. Clonal analysis of mouse intestinal epithelial progenitors. *- Gastroenterology* 1999; 116: 7-14.
45. Trier JS. Studies on small intestinal crypt epithelium. I. The fine structure of the crypt epithelium of the proximal small intestine of fasting humans. *J Cell Biol* 1963; 18: 599-620.
46. Barrett KE., Keely SJ. Integrative physiology of intestinal electrolyte transport. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 4ª edición. Burlington, MA: Academic Press; 2006; 1931-51.
47. Merzel J, Leblond CP. Origin and renewal of goblet cells in the epithelium of the mouse small intestine. *Am J Anat* 1969; 124: 281-306.
48. Freeman JA. Goblet cell fine structure. *Anat Rec* 1966; 154: 121-47.
49. Trier JS. Morphology of the epithelium of the small intestine. En: Code CF, editor. *Handbook of physiology, sección 6, volumen 3*. Washington DC: American Physiological Society, 1968; 1125-75.
50. Neutra M, Leblond CP. Synthesis of the carbohydrate of mucus in the golgi complex as shown by electron microscope radioautography of goblet cells from rats injected with glucose-H3. *J Cell Biol* 1966; 30: 119-36.
51. Neutra M, Leblond CP. Radioautographic comparison of the uptake of galactose-H3 and glucose-H3 in the Golgi region of various cells se-

- creting glycoproteins or mucopolysaccharides. *J Cell Biol* 1966; 30: 137-50.
52. Bennett G, Leblond CP, Haddad A. Migration of glycoprotein from the Golgi apparatus to the surface of various cell types as shown by radioautography after labelled fucose injection into rats. *J Cell Biol* 1974; 60: 258-84.
53. Oliver MG, Specian RD. Cytoskeleton of intestinal goblet cells: role of microtubules in baseline secretion. *Am J Physiol* 1991; 260 (Pt 1): G850-G857.
54. Radwan KA, Oliver MG, Specian RD. Cytoarchitectural reorganization of rabbit colonic goblet cells during baseline secretion. *Am J Anat* 1990; 189: 365-76.
55. Forstner JF, Forstner GG. Gastrointestinal mucus. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 3ª edición. LR Johnson, editor. Nueva York: Raven Press. 1994; 1255-1310.
56. Lake AM, Bloch KJ, Neutra MR, Walker WA. Intestinal goblet cell mucus release. II. In vivo stimulation by antigen in the immunized rat. *J Immunol* 1979; 122: 834-37.
57. Solcia E, Capella C, Buffa R, Usellini L, Fiocca R, Sessa F. Endocrine cells of the digestive system. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 2ª edición. LR Johnson, editor. Nueva York: Raven Press; 1987; 111-130.
58. Buchan AM, Polak JM, Solcia E, Pearse AG. Localisation of intestinal gastrin in a distinct endocrine cell type. *Nature* 1979; 277: 138-40.
59. Dockray GJ. Gastrointestinal hormones: gastrin, cholecystokinin, somatostatin and ghrelin. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 4ª edición. LR Johnson, editor. Burlington, MA: Elsevier Academic Press; 2006; 91-120.
60. Englander EW, Greeley GH. Postpyloric gastrointestinal peptides. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 4ª edición. LR Johnson, editor. Burlington, MA: Elsevier Academic Press; 2006; 121-160.
- 60b. Drucker D. Gastrointestinal peptide hormones regulating energy and glucose homeostasis. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 4ª edición. LR Johnson, editor. Burlington, MA: Elsevier Academic Press; 2006; 161-182.
61. Owen RL, Jones AL. Epithelial cell specialization within human Peyer's patches: an ultrastructural study of intestinal lymphoid follicles. *Gastroenterology* 1974; 66: 189-203.
62. Trier JS. Structure and function of intestinal M cells. *Gastroenterol Clin North Am* 1991; 20: 531-47.
63. Wolf JL, Rubin DH, Finberg R, Kauffman RS, Sharpe AH, Trier JS, Fields BN. Intestinal M cells: a pathway for entry of reovirus into the host. *Science* 1981; 212: 471-72.
64. Allan CH, Mendrick DL, Trier JS. Rat intestinal M cells contain acidic endosomal-lysosomal compartments and express class II major histocompatibility complex determinants. *Gastroenterology* 1993; 104: 698-708.
65. Wolf JL, Kauffman RS, Finberg R, Dambrauskas R, Fields BN, Trier JS. Determinants of reovirus interaction with the intestinal M cells and absorptive cells of murine intestine. *Gastroenterology* 1983; 85: 291-300.
66. Owen RL, Pierce NF, Apple RT, Cray WC Jr. M cell transport of *Vibrio cholerae* from the intestinal lumen into Peyer's patches: a mechanism for antigen sampling and for microbial transepithelial migration. *J Infect Dis* 1986; 153: 1108-18.

67. Neutra MR, Phillips TL, Mayer EL, Fishkind DJ. Transport of membrane-bound macromolecules by M cells in follicle-associated epithelium of rabbit Peyer's patch. *Cell Tissue Res* 1987; 247: 537-46.
68. Bhalla DK, Owen RL. Cell renewal and migration in lymphoid follicles of Peyer's patches and cecum--an autoradiographic study in mice. *Gastroenterology* 1982; 82: 232-42.
69. Isomäki AM. A new cell type (tuft cell) in the gastrointestinal mucosa of the rat. A transmission and scanning electron microscopic study. *Acta Pathol Microbiol Scand A* 1973: Suppl 240: 1-35.
70. Nabeyama A, Leblond CP. "Caveolated cells" characterized by deep surface invaginations and abundant filaments in mouse gastro-intestinal epithelia. *Am J Anat* 1974; 140: 147-65.
71. Trier JS, Allan CH, Marcial MA, Madara JL. Structural features of the apical and tubulovesicular membranes of rodent small intestinal tuft cells. *Anat Rec* 1987; 219: 69-77.
72. Tsubouchi S, Leblond CP. Migration and turnover of entero-endocrine and caveolated cells in the epithelium of the descending colon, as shown by radioautography after continuous infusion of 3H-thymidine into mice. *Am J Anat* 1979; 156: 431-51.
73. Sbarbati A, Osculati FA. New fate for old cells: brush cells and related elements. *J Anat* 2005; 206: 349-58.
74. Sbarbati A, Osculati F. The taste cell-related diffuse chemosensory system. *Prog Neurobiol* 2005; 75: 295-307.
75. Kellett GL, Brot-Laroche E, Mace OJ, Leturque A. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2. *Annu Rev Nutr* 2008; 28: 35-54.
76. Madara JL. Cup cells: structure and distribution of a unique class of epithelial cells in guinea pig, rabbit, and monkey small intestine. *Gastroenterology* 1982; 83: 981-94.
77. Ramirez C, Gebert A. Vimentin-positive cells in the epithelium of rabbit ileal villi represent cup cells but not M-cells. *J Histochem Cytochem* 2003; 51: 1533-44.
78. Fujimura Y, Iida M. A new marker for cup cells in the rabbit small intestine: expression of vimentin intermediate filament protein. *Med Electron Microsc* 2001; 34: 223-29.
79. Wheeler EJ, Wheeler JK. Comparative study of Paneth cells in vertebrates. *Anat Rec* 1964; 148: 350-63.
80. Cheng H, Merzel J, Leblond CP. Renewal of Paneth cells in the small intestine of the mouse. *Am J Anat* 1969; 126: 507-25.
81. Staley MW, Trier JS. Morphologic heterogeneity of mouse Paneth cell granules before and after secretory stimulation. *Am J Anat* 1965; 117: 365-83.
82. Stappenbeck TS. Paneth cell development, differentiation, and function: new molecular cues. *Gastroenterology* 2009; 137: 30-33.
83. Troughton WD, Trier JS. Paneth and goblet cell renewal in mouse duodenal crypts. *J Cell Biol* 1969; 41: 251-68.
84. Erlandsen SL, Parsons JA, Taylor TD. Ultrastructural immunocytochemical localization of lysozyme in the Paneth cells of man. *J Histochem Cytochem* 1974; 22: 401-13.
85. Selsted ME, Miller SI, Henschen AH, Ouellette AJ. Enteric defensins: antibiotic peptide components of intestinal host defense. *J Cell Biol* 1992; 118: 929-36.

86. Ouellette AJ, Greco RM, James M, Frederick D, Naftilan J, Fallon JT. Developmental regulation of cryptdin, a corticostatin/defensin precursor mRNA in mouse small intestinal crypt epithelium. *J Cell Biol* 1989; 108: 1687-95.
87. Wehkamp J, Fellermann K, Herrlinger KR, Bevins CL, Stange EF. Mechanisms of disease: defensins in gastrointestinal diseases. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 406-15.
88. Keshav S, Lawson L, Chung LP, Stein M, Perry VH, Gordon S. Tumor necrosis factor mRNA localized to Paneth cells of normal murine intestinal epithelium by in situ hybridization. *J Exp Med* 1990; 171: 327-32.
89. Vaishnava S, Behrendt CL, Ismail AS, Eckmann L, Hooper LV. Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105): 20858-63.
90. Erlandsen SL, Chase DG. Paneth cell function: phagocytosis and intracellular digestion of intestinal microorganisms. I. *Hexamita muris*. *J Ultrastruct Res*. 1972; 41: 296-318.
91. Erlandsen SL, Chase DG. Paneth cell function: phagocytosis and intracellular digestion of intestinal microorganisms. II. *Spiral microorganism*. *J Ultrastruct Res* 1972; 41: 319-33.
92. Karlsson J, Pütsep K, Chu H, Kays RJ, Bevins CL, Andersson M. Regional variations in Paneth cell antimicrobial peptide expression along the mouse intestinal tract. *BMC Immunol* 2008; 9: 37.
93. Fernandez MI, Regnault B, Mulet C, Tanguy M, Jay P, Sansonetti PJ, Pédrón T. Maturation of Paneth cells induces the refractory state of newborn mice to *Shigella* infection. *J Immunol* 2008; 180 :4924-30.
94. Liévin-Le Moal V, Servin AL. The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: mucins, antimicrobial peptides, and microbiota. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 315-37.
95. Shi J. Defensins and Paneth cells in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1284-92.
96. Klionsky DJ. Crohn's disease, autophagy, and the Paneth cell. *N Engl J Med* 2009; 360: 1785-86.
97. Ramasundara M, Leach ST, Lemberg DA, Day AS. Defensins and inflammation: the role of defensins in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009; 24: 202-8.
98. Huynh D, Dai XM, Nandi S, Lightowler S, Trivett M, Chan CK, Bertoncello I, Ramsay RG, Stanley ER. Colony stimulating factor-1 dependence of Paneth cell development in the mouse small intestine. *Gastroenterology* 2009; 137:136-44.
99. Stappenbeck TS. Paneth cell development, differentiation, and function: new molecular cues. *Gastroenterology* 2009; 137: 30-33.

Fisiología gástrica: ácido clorhídrico y proteasas

Carolina Serrano, Paul R. Harris

El estudio de la fisiología y la fisiopatología gástricas experimentaron grandes avances durante el siglo XX; sin embargo, desde el descubrimiento en los años 80, por los médicos australianos Barry Marshall y Robin Warren de la bacteria *Helicobacter pylori*, la comprensión de la etiología de numerosas patologías gastrointestinales como la úlcera péptica y el cáncer gástrico, cambió radicalmente. Con ello, todos los conocimientos previos fueron sometidos a una profunda reevaluación crítica, generando una explosión del conocimiento del estómago en aspectos tan novedosos como la ecología bacteriana del antes considerado órgano aséptico. También, los aspectos de digestión por pepsinas y ácido clorhídrico han sido intensamente reevaluados.

H. pylori, el patógeno más común del tracto gastrointestinal en los seres humanos, es también la causa más común de gastritis crónica y está etiológicamente asociado con las úlceras duodenal y gástrica, el adenocarcinoma gástrico y el linfoma tipo MALT. Presenta múltiples factores de virulencia asociados con la capacidad de colonización del epitelio gástrico, la sobrevivencia al ambiente ácido, la capacidad de adherencia y a la capacidad de generar inflamación y romper la barrera epitelial. La respuesta inmune al patógeno está en directa relación con la capacidad de producir daño en la mucosa y generar una respuesta inflamatoria controlada, que permite el establecimiento de condiciones de menor gravedad. Aunque la mayoría de la gente está infectada, sólo una pequeña proporción tendrá manifestaciones clínicas de la enfermedad. Las patologías asociadas con

la infección por *H. pylori* son de alta complejidad y no existe hasta el momento un marcador único a nivel de la bacteria o del hospedero que prediga el desarrollo clínico de la infección. La presencia de factores de virulencia, los polimorfismos en determinadas citoquinas, el infiltrado inflamatorio y el tipo de respuesta Th observada, además de factores externos como el consumo de alcohol, tabaco y la alimentación, cumplen papeles fundamentales como factores de riesgo en el desarrollo de patologías de mayor gravedad. Es la relación entre estos factores la que contribuye de manera diferencial a la evolución de la infección por *H. pylori* en un individuo en particular.

1. Fisiología gástrica

La anatomía del estómago comprende tres áreas topográficas (fondo, cuerpo y antro) y dos áreas funcionales (áreas glandulares oxíntica y pilórica). El área oxíntica, caracterizada por la presencia de células parietales secretoras de ácido clorhídrico (HCl) comprende aproximadamente un 80% del área total del estómago. La glándula oxíntica está organizada en unidades tubulares verticales, en donde encontramos tanto células epiteliales gástricas como células productoras de mucus, células parietales productoras de HCl, células principales productoras de zimógenos como pepsinógenos y lectinas, células enterocromafines (EC) productoras de péptido natriurético atrial, serotonina y adrenomedulina, células tipo EC productoras de histamina (ECL), células D que secretan somatostatina y células del tipo A o G

que contienen ghrelina y obestatina. En el área pilórica el tipo celular representativo son las células G, que secretan gastrina aunque también se encuentran células D, células EC y células del tipo A o GR.

a) Ácido clorhídrico

a.1) Secreción de ácido clorhídrico

Las células parietales secretan HCl a una concentración molar de alrededor de 160 mmol/L o a pH 0.8. El ácido alcanza el lumen gástrico a través de canales presentes en la capa mucosa creados por las altas presiones hidrostáticas intraglandulares que ocurren durante la secreción.

Las tres vías principales involucradas en la estimulación de las células parietales para generar la secreción de ácido son la vía neuronal a través de la acetilcolina, una vía de estimulación paracrina por histamina secretada por las células del tipo EC y la estimulación hormonal a cargo de la gastrina. Esta última actúa a través de la interacción con los receptores de colecistoquinina (CCK-2) en las células ECL, que liberan histamina que a su vez interactúa con receptores de histamina en las células parietales. Estas tres vías paralelas y no excluyentes generan cascadas de AMP cíclico que estimulan la activación de la bomba de protones en la célula parietal (Figura 1).

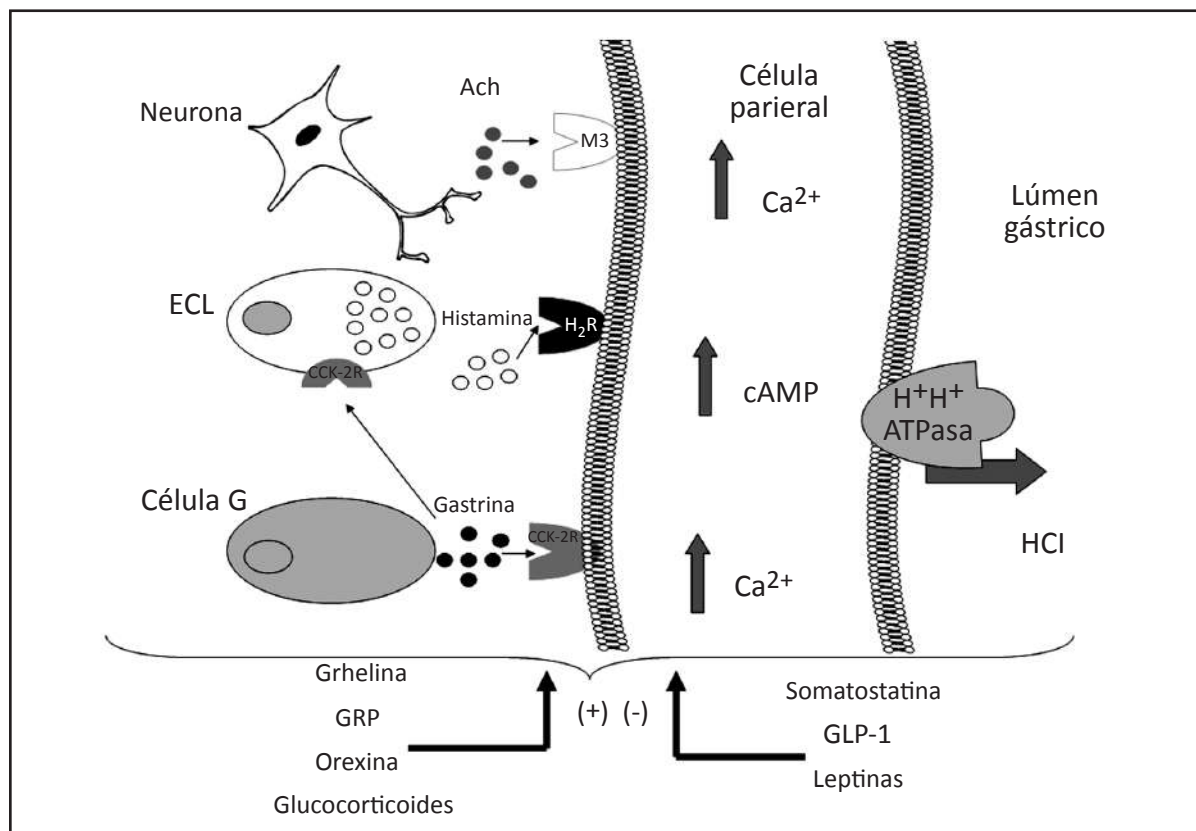


Figura 1. Principales mecanismos de control de la secreción de ácido. Las tres vías principales involucradas en la estimulación de las células parietales para generar la secreción de HCl son la vía neuronal a través de la acetilcolina, una vía de estimulación paracrina por histamina secretada por las células del tipo EC y la estimulación hormonal a cargo de la gastrina. GRP: péptido liberador de gastrina; Ach: acetilcolina; ECL: células tipo enterocromafín; GLP-1: péptido tipo glucagón-1; CCK-2: receptor de colecistoquinina 2; M3: receptor muscarínico 3; cAMP: AMP cíclico.

a.2) Control de la secreción del ácido gástrico

-Gastrina: sintetizada por las células G a partir del precursor preprogastrina que es procesado de manera postraduccional en primera instancia al ser clivado el péptido señal N-terminal, denominándose progastrina. Posteriormente la progastrina es procesada en vesículas intracelulares por endopetididasas y carboxipeptidasas generando un precursor extendido con glicinas. Se agrega un grupo amida y el precursor es clivado para generar la gastrina-34 amida, más gastrina-17 que son las formas secretadas predominantemente por las células G. La gastrina es el principal estimulante hormonal para la secreción de HCl luego de la ingesta de alimentos. Activa en sus células blanco al receptor CCK-2 acoplado a una proteína G que activa a la fosfolipasa C (PLC) para generar Inositol 3-fosfato (IP3) e influxo de calcio y diacilglicerol (DAG), permitiendo la activación de la proteína quinasa C (PKC). Además, su acción está también acoplada a otras vías de transducción de señales como la fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K) y MAPK kinasas. El receptor CCK-2 se expresa tanto en células parietales como ECL. La secreción de ácido mediada por gastrina ocurre de manera indirecta a través de la liberación de histamina por las células ECL. Las células parietales, por su parte, necesitan de una concentración crítica de AMPc para poder ser susceptibles a la estimulación directa por gastrina para secretar ácido.

La gastrina regula la secreción de histamina en dos fases. Inicialmente, provocando la liberación de gránulos de histamina preexistentes y en, segundo lugar, dando cuenta de la recuperación de los gránulos de almacenaje aumentando la actividad de la histamina decarboxilasa (HDC).

El pH gástrico regula parte del feedback que determina la secreción de gastrina. En condiciones de pH bajo se inhibe la secreción de gastrina. Por el contrario, un pH gástrico alto aumenta la secreción de gastrina generando hipergastrinemia. Adicionalmente, la gastrina ejerce regulación sobre su propia secreción, aumentando la liberación de somatostatina en el caso de encontrarse los niveles de la primera elevados. La gastrina tiene también funciones como

hormona trófica aumentado la proliferación tanto de las células parietales como ECL, dando cuenta de su posible papel en el desarrollo de neoplasias en el tracto digestivo.

-Histamina: generada a partir de la decarboxilación de L-histidina por la enzima HDC. Es capaz de difundir a las células parietales e interactuar con el receptor H₂ de la histamina (Figura 1). Este receptor se encuentra acoplado a una proteína G que a su vez activa a una adenilato ciclasa para producir el aumento de la concentración de AMPc lo que llevará al reclutamiento de la H⁺K⁺ ATPasa a la membrana apical del canalículo y a la posterior secreción de ácido.

-Acetilcolina: las células parietales expresan el subtipo M3 de receptor muscarínico (Figura 1). Estos se encuentran acoplados a PLC y aumentan la liberación de IP3 y calcio intracelular. Adicionalmente, activan los subtipos muscarínicos M2 y M4 en las células D, inhibiendo la secreción de somatostatina y removiendo así la inhibición sobre la gastrina y su rol inductor de la secreción de ácido.

-Péptido liberador de gastrina (GRP): perteneciente a la familia de las bombesinas, el GRP interactúa con receptores acoplados a proteínas G de los cuales un subtipo se encuentra expresado en las células G y D generando en última instancia el aumento de la secreción de ácido.

-Ghrelina: ligando endógeno del receptor del secretagogo de la hormona de crecimiento. Sus niveles plasmáticos aumentan antes de la ingesta de alimentos y disminuyen después de ésta. Se ha reportado la capacidad de la ghrelina de estimular la secreción de ácido a través de estimulación vagal y liberación de histamina.

-Orexina: las orexinas A y B son derivadas a partir de modificaciones postraduccionales de un precursor. Interactúan mediante receptores acoplados a proteínas G y su administración intracerebroventricular y periférica estimulan la secreción de ácido.

-Glucocorticoides: la administración de glucocorticoides puede generar aumento en la secreción de ácido a través de la activación de la vía de la PI3K y la posterior activación de la kinasa inducible por glucocorticoides (SGK1). Esta regula el transporte a la membrana apical de canales rectificadores de K⁺ indispensables para el funcionamiento de la bomba H⁺K⁺ATPasa.

-Somatostatina: principal inhibidor de la secreción de ácido gástrico. Se sintetiza a partir de un precursor de 92 aminoácidos que se procesa para dar origen a la somatostatina-28, forma predominante en el intestino delgado, y a la somatostatina-14, forma predominante tanto en el estómago como en los islotes pancreáticos y las neuronas entéricas. Sus células blanco son las células parietales, las células G y ECL en las cuales actúa a través del receptor de somatostatina de subtipo 2, inhibiendo tanto la secreción de ácido de manera directa en la célula parietal, o indirecta mediante la inhibición de la liberación de gastrina e histamina.

-Leptinas: se les ha descrito un efecto inhibidor en la producción de ácido. Secretadas por las células principales en el estómago en respuesta al carbacol y a los alimentos, actúa de manera indirecta a través de la estimulación vagal.

-Péptido tipo glucagón-1 (GLP-1): generado a partir de modificaciones postraduccionales de proglucagón en respuesta a la presencia de nutrientes en el lumen intestinal. Inhibe la secreción de ácido estimulada por la ingesta de alimentos y el vaciamiento gástrico mediante estimulación vagal (1,2).

a.3) Regulación fisiológica del ácido en respuesta a la comida

La estimulación fisiológica de la secreción de ácido ha sido dividida clásicamente en tres fases, aún cuando la mecánica de dicha secreción no tiene un carácter discreto sino que representa un continuo de respuestas que apuntan a regular la secreción de ácido de acuerdo con estímulos fisiológicos mediante mecanismos tanto inhibitorios como estimulantes.

La primera fase o fase cefálica se genera como respuesta a una estimulación sensorial asociada con la comida ya sea por oler, saborear, deglutir, oír, pensar en comida o por hipoglucemia. Las áreas del SNC importantes como centros reguladores de la fase cefálica de la secreción gástrica son el área postrema, el núcleo del tracto solitario y el núcleo motor dorsal, que llevan a la activación principalmente de neuronas colinérgicas que llevan el impulso vía nervio vago a las neuronas colinérgicas intramurales gástricas. Reportes en perros y humanos demostraron una reducción del 50% en la secreción de ácido gástrico en la fase cefálica asociado con vagotomías e inhibición de receptores muscarínicos. La acetilcolina liberada por las neuronas colinérgicas actúa en el cuerpo gástrico de manera directa, estimulando las células parietales, o indirecta removiendo la influencia paracrina inhibitoria mediada por la somatostatina sobre las células parietales y ECL, generando un efecto neto mediado por histamina, que da cuenta de un aumento de la secreción de ácido por las células parietales en respuesta a histamina y un bloqueo de la inhibición paracrina vía inhibición de la somatostatina. En el antro, la estimulación colinérgica estimula la secreción de gastrina también de manera directa sobre las células G y de manera indirecta vía la inhibición de la secreción de somatostatina.

La segunda fase o fase gástrica ocurre en respuesta a los estímulos químicos derivados de la comida y de la distensión física del estómago por efecto de ésta. Esta fase aporta casi el 50% del total de la secreción ácida y es mediada esencialmente por la gastrina. El bloqueo o la inmunoneutralización de la gastrina en modelos animales ha demostrado una disminución casi completa de la secreción de ácido durante el desarrollo de la fase gástrica. La utilización de bloqueadores H₂ sugiere además que el efecto no es directo sobre la célula parietal propiamente tal sino a través de la liberación de histamina a consecuencia del aumento en la gastrina.

La tercera fase o fase intestinal de la secreción de ácido se produce por la llegada de péptidos al intestino delgado. Esta secreción depende de la emisión de pequeñas cantidades de gastrina liberadas por el

propio intestino y representa en circunstancias normales solamente una pequeña parte de la respuesta de secreción de ácido que se produce como respuesta a una comida. El restablecimiento del control sobre la secreción de ácido ocurre de manera de restituir la influencia inhibitoria de la somatostatina en el cuerpo y antro gástricos. Este estado se caracteriza por la influencia inhibitoria sobre las células G, ECL y células parietales ejercida por las células secretoras de somatostatina. Un feedback paracrino negativo generado luego de un aumento de la secreción de gastrina se activa con el fin de restituir la secreción de somatostatina. Adicionalmente existe una disminución de la activación de las neuronas colinérgicas por la distensión estomacal seguidas por una activación directa de las células secretoras de somatostatina al generarse el contacto con el ácido luminal restableciendo así el tono inhibitorio sobre la secreción de ácido, característico del estado basal que ocurre entre comidas.

b) Proteasas gástricas

b.1) Características bioquímicas

La mucosa gástrica humana es capaz de sintetizar proteasas ricas en ácido aspártico, secretadas en forma de zimógenos que en contacto con el ácido del estómago se convierten a sus formas activas. Existen cuatro tipos de pepsinógenos (PP) conocidos en humanos, como:

- pepsinógeno A (PPA) también conocido como pepsinógeno I.
- pepsinógeno F (PPF).
- progastricsina (PGC) también conocido como pepsinógeno II.
- proquimosina. Sus formas activas se denominan pepsina, gastricsina y quimosina.

La expresión de PPF ocurre esencialmente en la mucosa gástrica fetal. Tanto la PPA como la quimosina se expresan principalmente en el tejido gástrico no así la GGC, cuya expresión ha sido descrita tanto en la mucosa gástrica como en el intestino, pulmón, vesícula seminal y próstata. Se han descrito al menos

cinco isoformas para el caso de PPA, generados tanto por la presencia de distintos genes codificantes como por modificaciones postraduccionales como por fosforilación y glicosilación. Para el caso de las otras proteasas no se han descrito distintos genes codificantes pero sí isoformas basados en modificaciones postraduccionales.

Los zimógenos gástricos consisten esencialmente en una cadena polipeptídica de aproximadamente 370 aminoácidos. Poseen tres segmentos identificables a partir de la secuencia nucleotídica: un propéptido que constituye el péptido señal, altamente hidrofóbico y que es clivado durante la síntesis del zimógeno: un segmento de activación de carácter relativamente básico, y el segmento que presenta la actividad enzimática propiamente tal, caracterizado por una mayor presencia de aminoácidos ácidos cargados negativamente. Los residuos de importancia catalítica son dos ácidos aspárticos cuya mutación dirigida inactiva la actividad enzimática. Adicionalmente, los residuos circundantes a los aminoácidos catalíticos se encuentran también conservados a nivel de la secuencia primaria entre las distintas proteasas.

La activación de los pepsinógenos gástricos depende del pH y se basa en interacciones de tipo electrostáticas, hidrofóbicas y de puentes de hidrógeno formadas entre el segmento de activación de la proteína y el segmento enzimático propiamente tal. A pH neutro se genera una forma estable del zimógeno en la cual el segmento de activación se encuentra unido al sitio de unión a sustrato del segmento catalítico. A pH 5 los residuos ácidos del segmento enzimático se protonan generando un cambio conformacional en la proteína que da inicio a la reacción de activación. Para generar la activación de los pepsinógenos se requiere del clivaje del segmento de activación, realizado por la misma enzima. Existen dos sitios de clivaje en el segmento de activación. El primero se encuentra en el enlace que conecta el segmento de activación con el segmento enzimático. El segundo sitio se encuentra en la mitad del segmento de activación. Uno o ambos de los residuos que forman parte de estos enlaces, son de carácter hidrofóbico y

aromático. A partir del corte en el primer sitio de clivaje se genera la forma activa de la proteína. El corte en el segundo sitio genera un intermediario que necesita de posterior procesamiento para dar origen a la forma activa de los pepsinógenos. En la activación del PPA ambos tipos de clivaje ocurren de manera simultánea con tasas de ocurrencia similares. En el caso de PGC el procesamiento es en general de forma secuencial. Adicionalmente a las distintas vías de activación de los pepsinógenos se ha descrito que la reacción que lleva al procesamiento proteolítico del segmento de activación puede ocurrir tanto de manera intra como intermolecular (Figura 2). El rango de pH en donde las proteasas presentan una mayor actividad enzimática varía desde 2 a 5, en donde los residuos ácidos se encuentran protonados, confiriéndole una mayor estabilidad a la proteína en su forma activa. La hidrólisis de los enlaces peptídicos ocurre esencialmente a través del ataque nucleofílico asistido de los enlaces por parte de los residuos de ácido aspártico del sitio activo. La pepsina A tiene su máximo de actividad enzimática a pH 2 e hidroliza principalmente enlaces que incluyen

aminoácidos hidrofóbicos aromáticos. La gastricsina y quimosina presentan especificidades enzimáticas similares en general a la pepsina A aunque presentan su óptimo de actividad a pH 3 y 4, respectivamente (3,4).

b.2) Control de la secreción de proteasas gástricas

La síntesis y secreción basal de pepsinógeno ocurren en el estómago de los seres humanos de manera normal. Esta síntesis basal es independiente de estímulos y tiene por propósito mantener el reservorio de gránulos de pepsinógeno que permiten la secreción rápida en respuesta a un estímulo secretor. Cuando la síntesis supera la capacidad de almacenaje, se produce una secreción basal que responde al exceso de producción de pepsinógenos. Existen mecanismos de feedback tanto negativos como positivos que controlan tanto los niveles de síntesis como de almacenaje. La síntesis es inhibida por el aumento de la cantidad de gránulos de almacenaje. La liberación de gránulos dependiente de estímulo puede generar dos tipos de respuesta dependiendo del tipo de estímulo de secreción. Estímulos leves y de

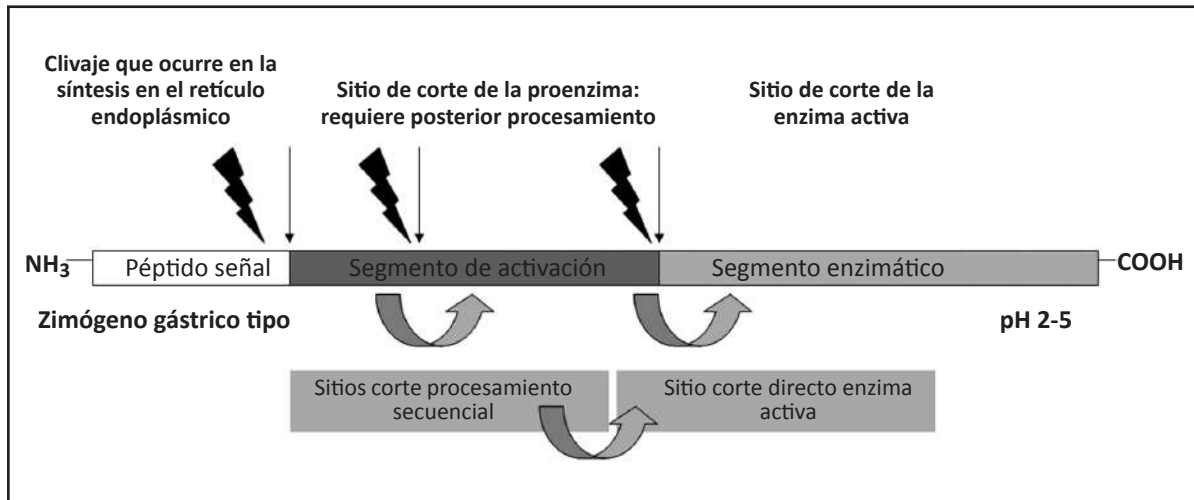


Figura 2. Vía de activación de pepsinógenos. La activación de los pepsinógenos gástricos depende del pH. Con pH bajos los residuos ácidos del segmento enzimático se protonan generando el clivaje del segmento de activación de manera autocatalítica. Existen dos sitios de clivaje. El primero se encuentra en el enlace que conecta el segmento de activación con el segmento enzimático. El segundo en la mitad del segmento de activación. A partir del corte en el primer sitio de clivaje se genera la forma activa de la proteína. El corte en el segundo sitio genera un intermediario que necesita de un posterior procesamiento para dar origen a la forma activa de los pepsinógenos.

corta duración generan un aumento de la cantidad de RNA mensajero de los pepsinógenos para la posterior reposición de los gránulos de almacenaje. Los estímulos de secreción más persistentes generan un aumento de la síntesis de manera paulatina hasta alcanzar velocidades similares para la síntesis y la secreción de pepsinógenos. Ante el cese del estímulo secretor, las células entran en un ciclo restaurativo que permite reponer los gránulos de depósito.

La secreción de pepsinógenos por las células principales es independiente de la secreción de ácido por las células parietales y requiere de la participación de al menos dos vías de señalización intracelular como las dependientes del mediador AMPc, de cambios en la concentración intracelular de calcio y de la activación de PKC. El estímulo secretor de mayor potencia conocido es la estimulación colinérgica vagal, sea esta inducida de manera directa por estímulos eléctricos o de manera indirecta por distensión gástrica, hiperventilación y otras condiciones. La utilización de antagonistas colinérgicos como la atropina o la pirenzepina inhiben la secreción de pepsinógenos por un mecanismo dependiente de los receptores muscarínicos M1 y M2.

Se han reportado efectos tanto estimuladores como inhibidores de la secreción relacionados con la presencia de histamina pero los resultados obtenidos de modelos *in vivo* o *in vitro* difieren, dificultando determinar el efecto real. Agonistas adrenérgicos, como el isoproterenol, son capaces de inducir la secreción de pepsinógenos en glándulas gástricas aisladas. Tanto la gastrina como la pentagastrina estimulan la secreción de pepsinógeno en modelos *in vivo* pero la estimulación directa de células principales en cultivo no ha sido demostrada. El octapeptido colecistoquinina (CCK-8) y sus péptidos relacionados son capaces de inducir la secreción en glándulas gástricas aisladas. El péptido vasoactivo intestinal (VIP) también ha sido reportado como capaz de estimular la secreción de pepsinógenos por mecanismos similares a los inducidos por la secretina. La bombesina estimula la secreción por acción directa sobre las glándulas o mediante la modulación de la secreción de gastrina. Por el contrario, tanto el glucagón como

la somatostatina son capaces de inhibir la secreción de pepsinógenos mediante la activación de proteínas G inhibitorias que inhiben la actividad de la Adenilato ciclasa (5).

2. *Helicobacter pylori*

H. pylori coloniza el estómago de aproximadamente la mitad de la población mundial convirtiéndolo en uno de los patógenos con más éxito evolutivo. Actualmente la infección por *H. pylori* es responsable de una parte no menor de la morbilidad y mortalidad asociada con infecciones del tracto digestivo. Patologías como la úlcera péptica, el linfoma MALT y el adenocarcinoma gástrico han sido relacionadas con la presencia de *H. pylori* y elevado a este último al estatus de carcinógeno de tipo I.

H. pylori es una bacteria Gram negativa perteneciente al grupo de las Epsilon proteobacterias según la filogenia basada en el gen ribosomal 16s propuesta por Carl Woese. Posee forma de bacilos espiralados con cuatro a siete flagelos polares. Se han descrito adicionalmente formas del tipo cocácea tanto a nivel ambiental como en laboratorio, asociadas esencialmente con una condición de privación de nutrientes, por lo que se postula que las formas cocáceas serían morfologías ambientales latentes en espera de un hospedero. Su crecimiento en cultivo es lento, a 37°C, requiere de microaerofilia en un medio rico, en general suplementado con sangre. Recientemente el genoma de *H. pylori* fue secuenciado demostrando que la bacteria posee un genoma de reducido tamaño, con un mínimo de genes metabólicos y escasos mecanismos de adaptación (6).

La adquisición de la infección por *H. pylori* está relacionada con el nivel socioeconómico y las condiciones de vida del hospedero. Específicamente, el hacinamiento, la calidad del agua disponible para el consumo, la falta de servicios higiénicos, la pertenencia a regiones con mayores niveles de ruralidad, ingresos familiares bajos y bajos niveles educacionales han sido correlacionados históricamente con un aumento en la infección por *H. pylori*. La presencia de dichos factores da cuenta de prevalencias en la

infección a nivel de país que varían enormemente dependiendo del ingreso *per cápita*, contraponiendo países de altos ingresos *versus* países de bajos ingresos, con prevalencias que varían aproximadamente desde un 30% a un 90%, respectivamente.

En Latinoamérica la infección es adquirida preponderantemente en la niñez y no se encuentran diferencias de género en la prevalencia en los distintos grupos etarios. La reinfección es también más común en las poblaciones pediátricas y son el contacto cercano entre hermanos menores de 5 años y la transmisión desde madres a hijos, los factores preponderantes en el riesgo de reinfección (7, 8).

a) Patologías asociadas con la infección por *H. pylori*

La generación del daño asociado con esta infección depende de la instauración de mecanismos inmunes que buscan la erradicación de la bacteria, además de los factores de virulencia bacterianos. Se ha relacionado la presencia de *H. pylori* con la etiología de la úlcera duodenal o gástrica, que presenta aproximadamente un 15% del total de los infectados. El linfoma de tipo MALT es también atribuido a la presencia de *H. pylori*, aunque su prevalencia es aún menor. Adicionalmente, *H. pylori* ha sido descrito como causa necesaria pero no suficiente para el desarrollo de adenocarcinomas del estómago en un porcentaje menor de los infectados. Hoy en día es relativamente aceptado que la distribución y la extensión de la gastritis se relacionan directamente con los pronósticos y consecuencias de la infección. Se describen tres grandes tipos de gastritis (Figura 3). El fenotipo más común se caracteriza por una pangastritis moderada con pocas alteraciones en la secreción de ácido, considerada de carácter benigno y la presentan en su mayoría pacientes asintomáticos que no desarrollan complicaciones serias.

El segundo fenotipo se asocia con la aparición de úlceras duodenales y se caracteriza por una gastritis de predominio antral con niveles elevados de gastrina e infiltrado inflamatorio y alta secreción de ácido. El tercer fenotipo se caracteriza por una gastritis de predominio corporal, niveles alterados en la razón

de pepsinógeno A/pepsinógeno C, atrofia gástrica multifocal y niveles bajos o nulos de secreción de ácido, con altas probabilidades para progresar a cáncer gástrico. En general este último fenotipo se presenta en un porcentaje muy bajo de los infectados, cercano al 1%. Esto eventualmente genera la pérdida del nicho bacteriano, por lo que en general en pacientes con gastritis atrófica ya no se observa a la bacteria en el estómago, pero sí títulos de anticuerpos en la sangre que dan cuenta de la exposición a la bacteria que gatilló el proceso preneoplásico. En general los destinos son excluyentes y existen datos consistentes que avalan que el desarrollo de úlcera duodenal, no así la úlcera gástrica, es un factor protector para el desarrollo del cáncer (Figura 3).

La infección por *H. pylori* ha sido asociada con una amplia variedad de otras condiciones médicas en adultos incluyendo la enfermedad coronaria, infecciones entéricas recurrentes, enfermedades periodontales, dolor de cabeza, rosácea, alergia a los alimentos, baja estatura, enfermedades a la tiroides y fenómeno de Raynaud. Muchas de estas observaciones carecen de controles apropiados (9).

b) Virulencia bacteriana

b.1) Colonización y adherencia

H. pylori es capaz de establecer una infección persistente que puede durar toda la vida de un individuo. Para esto es fundamental la capacidad de la bacteria de colonizar la mucosa gástrica y soportar las condiciones hostiles características del ambiente gástrico. La motilidad bacteriana, conferida por la presencia de varios flagelos polares, es de vital importancia en la capacidad de colonización. Mutantes no flagelados de *H. pylori* son incapaces de generar infecciones productivas en el modelo murino. *H. pylori* posee además la capacidad enzimática de interferir con la estructura de la mucina asegurando un mayor campo de movimiento a la bacteria. La motilidad de *H. pylori* se encuentra dirigida esencialmente por la necesidad de protegerse del ácido del estómago. *H. pylori* presenta quimiotaxis positiva para urea, bicarbonato de sodio e iones de sodio y negativa en el caso del pH.

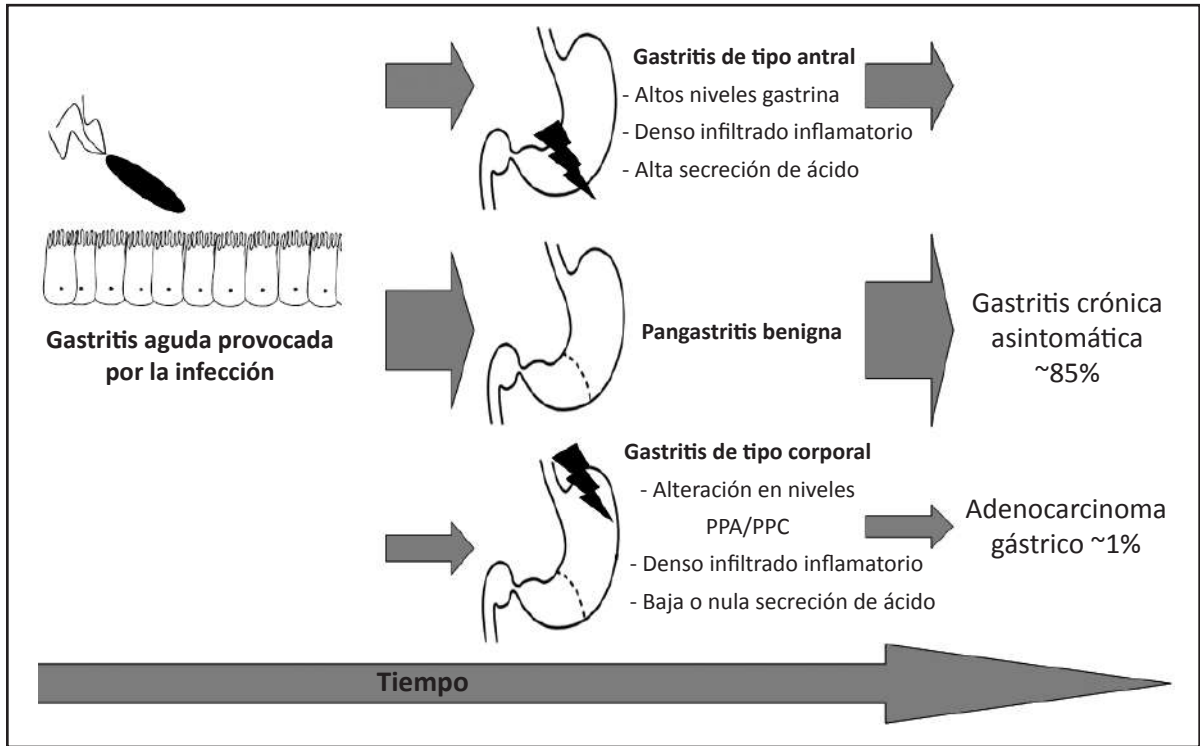


Figura 3. Historia natural de la infección por *H. pylori*. La infección por *H. pylori* genera en primera instancia una gastritis aguda asintomática que progresa con el tiempo a uno de tres grandes tipos de gastritis. El fenotipo más común se caracteriza por una pangastritis moderada, sin alteraciones en la secreción de HCl y la presentan personas asintomáticas que no desarrollan complicaciones serias. El segundo fenotipo se asocia con la aparición de úlceras duodenales y se caracteriza por una gastritis de predominio antral con niveles elevados de gastrina e infiltrado inflamatorio y alta secreción de ácido. El tercer fenotipo se caracteriza por una gastritis de predominio corporal, alteraciones de la razón PPA/PPC, atrofia gástrica multifocal y bajos niveles de secreción de HCl y se considera como una antesala del cáncer. Se presenta en un porcentaje cercano al 1% de los infectados. PPA: pepsinógeno A; PPC: pepsinógeno C.

Dado que el estómago posee un gradiente de pH, cercano a la neutralidad hacia cara apical del epitelio y ácido hacia el lumen estomacal, *H. pylori* utiliza su capacidad de orientarse espacialmente y moverse para evitar su arrastre hacia zonas de mayor concentración de ácido, dado el alto nivel de recambio del mucus.

Otro mecanismo de resistencia al ácido es la presencia de la enzima ureasa que hidroliza la urea en NH₃ y CO₂ (Figura 4). Este proceso es dependiente del pH, que induce la expresión de un cluster de siete genes que codifican para las subunidades de la enzima, UreA (26.5 kDa) y UreB (60.3 kDa), además de las proteínas accesorias responsables por la incor-

poración de urea. La urea hidrolizada genera una capacidad de buffer tanto en el citoplasma como en el periplasma bacteriano y crea una capa de pH neutro alrededor de la superficie bacteriana. La ureasa es uno de los antígenos mayormente reconocidos por el sistema inmune por lo que su papel en la patogénesis de las enfermedades asociadas con la presencia de *H. pylori* puede no terminar con la colonización. La capacidad de adherencia de *H. pylori* al epitelio gástrico es fundamental en la progresión hacia diversas condiciones patológicas. Si bien la gran mayoría de las bacterias se encuentran en la capa mucosa del estómago, existe un número asociado con el epitelio observable en cualquier tinción histológica. La

adherencia de *H. pylori* al epitelio ocurre mediante la presencia de adhesinas, proteínas expuestas en la superficie bacteriana que interactúan con receptores celulares. Las adhesinas mejor caracterizadas de *H. pylori* son la proteína de membrana externa BabA que media la unión de *H. pylori* a antígenos de Lewis b expresados en las células epiteliales. La adhesina SabA media la adherencia de la bacteria a antígenos de Lewis-x y a glicoproteínas conjugadas con ácido siálico que aumentan su expresión en inflamación. La expresión de estas adhesinas está sujeta a un control on/off que depende de señales ambientales. Otras adhesinas identificadas para *H. pylori* incluyen las proteínas de membrana externa AlpA/AlpB, HopZ, HpaA, y OipA y su presencia en numerosos casos se correlaciona con las cepas más virulentas. Muchas de estas adhesinas son frecuentemente reconocidas por el sistema inmune encontrándose en el suero de poblaciones pediátricas títulos de anticuerpos específicos, por ejemplo HpaA (10-12).

b.2) HP-NAP

La proteína activadora de neutrófilos HP-NAP, influye en el reclutamiento de neutrófilos al sitio de la infección. Existe una correlación entre el infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos, el daño en la mucosa gástrica y la aparición de enfermedad ulcerosa. HP-NAP es una proteína relacionada con las bacterioferritinas que posee un núcleo central para la acumulación de hierro; es capaz de cruzar la barrera epitelial y ponerse en contacto con células inflamatorias residentes. HP-NAP se une a receptores de membrana acoplados a proteínas G triméricas generando cascadas de señalización intracelulares que llevan a la activación de la enzima NADPH oxidasa de fagocitos. Esto produce radicales de oxígeno como aniones superóxido y especies reactivas intermedias de oxígeno, contribuyendo así a la inflamación (11,13).

b.3) Islote de patogenicidad Cag-PAI

Cag-PAI es el islote de patogenicidad de *H. pylori* y el mayor marcador de virulencia. Se postula que fue adquirido por transferencia horizontal a partir de un

cassette genético de una bacteria donante. Contiene 31 genes putativos que incluyen al gen que codifica para la proteína CagA. Análisis de similitud de secuencia revelan que este operón codifica para un sistema secretor del tipo IV (SS-IV) que opera como una jeringa molecular para insertar efectores bacterianos a las células eucariontes blanco (Figura 4). En general, la presencia del islote de patogenicidad, y en particular de la proteína CagA, se correlacionan con mayor infiltrado inflamatorio, mayor virulencia y potencialidad de generar daño con la infección por *H. pylori*. Esta asociación directa desaparece en países latinoamericanos y en Japón, caracterizados por altos niveles de infección por *H. pylori* CagA+ por lo que la relación entre virulencia y patología sólo es aplicable en países donde el porcentaje de infección con cepas virulentas no está tan extendido en la población. El gen asociado con la citotoxina A, CagA genera una proteína de 128–145-kDa que es inyectada por el SS-IV al citosol de las células blanco donde es fosforilada por kinasas celulares en residuos de tirosina que se encuentran inmersos en motivos de aminoácidos conocidos como EPIYA. Esta secuencia presenta polimorfismos asociados con su procedencia geográfica, que altera el número de fosforilaciones, alterando a su vez los posibles sitios de unión de proteínas efectoras y en última instancia la actividad de CagA (Figura 4).

La proteína fosforilada tiene varias funciones:

- genera sitios de unión para proteínas que unen tirosinas fosforiladas como SHP-2, que activa señalizaciones intracelulares que promueven la entrada en ciclo celular y las señales antiapoptóticas.
 - secreción de IL-8, a través de la activación del factor nuclear kappa β por células epiteliales.
 - remodelación de la superficie celular y formación de pedestales para aumentar la adherencia.
 - activación de factores de transcripción (activación del factor transcriptor AP-1).
 - expresión de proto-oncogenes (c-fos y c-jun).
 - desestabilización de las moléculas de E-cadherina presentes en las uniones estrechas mediante alteraciones de la vía Wnt/ β -catenina.
- Muchas de estas funciones se relacionan directa-

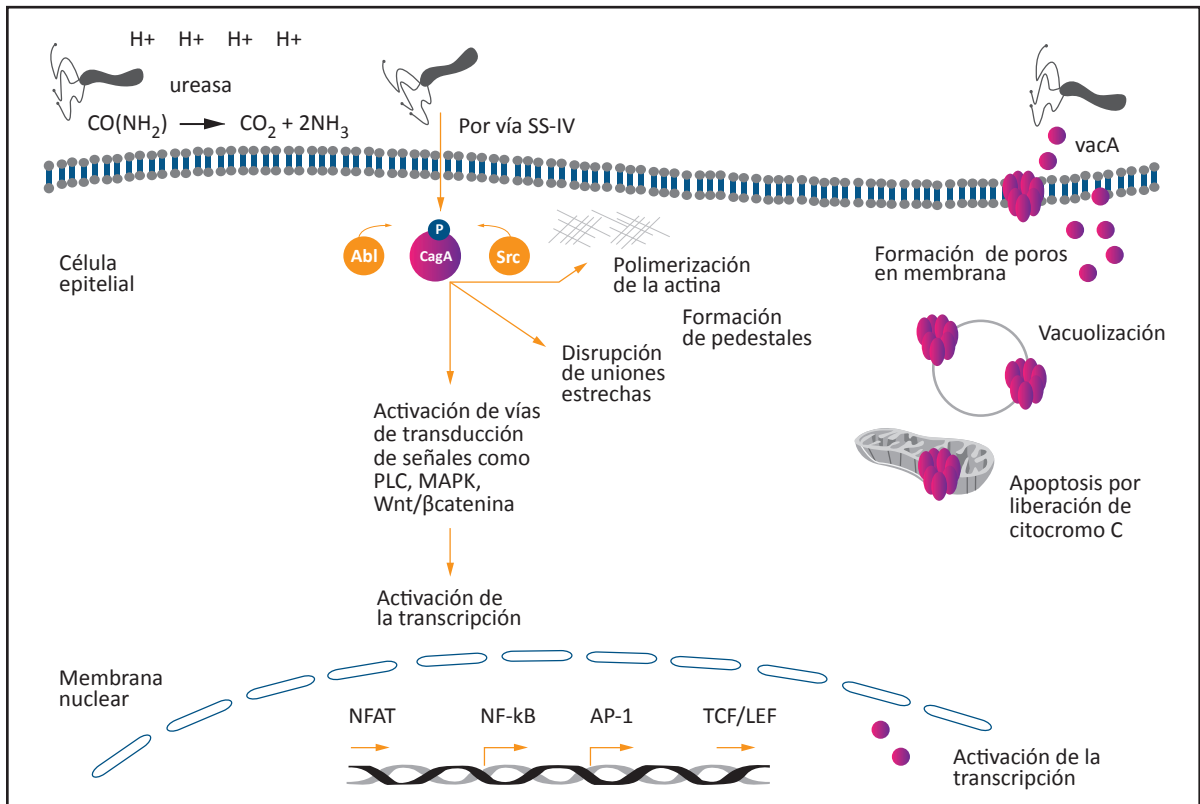


Figura 4. Principales factores de virulencia expresados por *H. pylori* y sus mecanismos de acción. La enzima ureasa permite la supervivencia de la bacteria en el ambiente ácido del estómago mediante la hidrólisis de la urea a NH_3 y CO_2 . La proteína CagA entra a la célula mediante el SSIV y es fosforilada por quinasas celulares pertenecientes a la familia de las Src. CagA fosforilado activa señalizaciones intracelulares que promueven la entrada en ciclo celular y las señales antiapoptóticas, secreción de IL-8, la polimerización de actina conducente a una remodelación de la superficie celular y la formación de pedestales y desestabilización de uniones estrechas, entre otros. VacA es una toxina vacuolizante formadora de poros tanto en la membrana celular como en vesículas intracelulares. Induce apoptosis a través de la vía intrínseca, actúa como adhesina y contribuye a la disrupción de la barrera epitelial. SS-IV: sistema de secreción tipo IV.

mente con los procesos de carcinogénesis y la infección con cepas que presentan CagA, si bien no aseguran el desarrollo de ese tipo de patología, sí se presentan como un factor de riesgo (14,15).

b.4) Citotoxina vacuolizante

VacA es una toxina vacuolizante formadora de poros que genera vacuolización de células gástricas en cultivo celular (Figura 4). Inicialmente la proteína VacA se traduce como un precursor de gran tamaño que es clivado en sus dos extremos para su secreción desde la bacteria. La región amino-terminal o región s, con-

tiene un péptido señal. La región carboxilo posee un dominio que corresponde a un sistema autotransportador que facilita la salida de la toxina desde la bacteria y que es clivado una vez que la proteína es secretada. En la región media se encuentra la región denominada m. Tanto las regiones s como m son polimórficas y se han descrito dos grandes familias de alelos. La presencia de determinados alelos se correlaciona con la actividad de la citotoxina. Los alelos s1m1 son considerados en general con mayor actividad vacuolizante y se correlacionan con la presencia de desarrollos clínicos de mayor gravedad

como úlceras y cáncer gástrico que los alelos s2m2. VacA posee varias actividades que pueden ser tóxicas para la célula (Figura 4):

- actividad como adhesina, aumentando la capacidad de colonización bacteriana.
- incrementa la conductividad iónica de la capa epitelial al modular la vía paracelular (uniones célula a célula).
- formación de un anillo molecular capaz de formar poros en la membrana plasmática, con actividad de canal de cloro.
- alteración de los compartimentos endosomales mediante la inserción de canales que generan vacuolización.
- alteración de la presentación antigénica debido a interferencias en el funcionamiento del transporte endosomal.
- inducción de apoptosis en células epiteliales reduciendo el potencial transmembrana de las mitocondrias, permitiendo la liberación del citocromo C y la activación de la vía intrínseca de apoptosis.
- inhibición de la producción de IL-2 requerida para asegurar la viabilidad de linfocitos T.
- efectos proinflamatorios que activan a linfocitos y mastocitos a producir TNF- α e IL-6.
- estimula la expresión de Cox-2 en neutrófilos y macrófagos (13,16).

c) Respuesta inmune

H. pylori en su contacto con la mucosa gástrica induce tanto una respuesta inmune humoral, caracterizada por una elevación transitoria de IgM con posterior elevación de IgG e IgA en el suero, como una respuesta inmune celular. En la mucosa gástrica de pacientes infectados por *H. pylori* es posible observar infiltración tanto de polimorfonucleares como de células mononucleares, además de incrementos de las concentraciones de citoquinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α .

H. pylori utiliza numerosos mecanismos para evadir la respuesta inmune con el propósito de asegurar su persistencia. La producción de la enzima arginasa por parte de la bacteria limita la generación de óxido nítrico producido por macrófagos, un potente

antibacteriano. Por otro lado, productos bacterianos tradicionalmente asociados con la estimulación del sistema inmune a través de la interacción con receptores del tipo Toll like (TLRs), presentan una menor capacidad de generar la activación de componentes del sistema tales como células dendríticas. Tanto en ensayos *in vitro* como en modelos animales, ha sido ampliamente demostrado que tanto el lipopolisacárido como las flagelinas pertenecientes a *H. pylori* generan una respuesta disminuida en células dendríticas al estimular a sus receptores blanco TLR-4 y TLR-5 respectivamente, siendo la disminución observada varias veces inferior a la desatada por otras bacterias Gram negativas como *E. coli* y *S. typhi*.

La respuesta de linfocitos T helper ha sido sujeto de estudio por largo tiempo debido a su contribución a la patogenia de las enfermedades asociadas con *H. pylori* (Figura 5). La infección por esta bacteria genera la expansión de clones específicos que generan perfiles de citoquinas tanto del tipo Th2 como del tipo Th1 siendo este último el de mayor preponderancia. La respuesta Th1 observada en mayor proporción en la mucosa de adultos infectados por *H. pylori*, está caracterizada por elevaciones en las concentración local de Interferón (IFN)- γ pero no es capaz de erradicar la bacteria. Sin embargo se correlaciona con una mayor severidad de la gastritis y con el desarrollo de patologías de mayor gravedad como las úlceras pépticas y el inicio de la transformación neoplásica ayudada por la inflamación crónica en pacientes que llevan muchos años infectados. El recientemente descrito perfil Th17, caracterizado por la secreción de la citoquina IL-17 ha sido observado en la mucosa de pacientes infectados por *H. pylori*. Esta citoquina estimula a las células presentadoras de antígenos y a las células epiteliales a producir la liberación de IL-8, aumentando el reclutamiento de neutrófilos al sitio de la infección. Adicionalmente, incrementa la liberación de citoquinas proinflamatorias y la liberación de metaloproteinasas de la matriz extracelular, contribuyendo así a generar daño en la mucosa de manera indirecta al aumentar el infiltrado inflamatorio, y de manera directa al generar daño en los tejidos a través de las proteasas.

Existen publicaciones recientes que indican que con el propósito de regular la respuesta inmune generada por la infección, individuos infectados con *H. pylori* poseen un mayor número de linfocitos regulatorios con los marcadores CD4+CD25+foxp3+ en comparación a los controles sanos. La expresión de citoquinas antiinflamatorias como TGF-β y de IL-10, también se encuentra aumentada en los pacientes infectados y se correlaciona inversamente con la intensidad de la colonización y la magnitud del daño. Se ha demostrado una asociación directa entre una disminución de la respuesta Treg y el aumento de las respuestas Th1 y Th2 en pacientes con úlcera gastroduodenal. Adicionalmente se ha demostrado que existen diferencias sustanciales en los niveles de res-

puesta Treg inducida por la infección por *H. pylori* en diferentes grupos etarios. Los niveles de gastritis observados en niños infectados con *H. pylori* (menores de 12 años) son significativamente menores con respecto a los adultos. Esta reducción de la inflamación se correlaciona con mayores niveles de citoquinas regulatorias como IL-10 y TGF-β tanto a nivel de RNA mensajero como de proteína y a un aumento de células CD4+CD25+Foxp3+ nivel de la mucosa gástrica en comparación con los adultos, dando cuenta de la relevancia de la respuesta Treg en el balance entre la persistencia de la infección y el desarrollo de patologías producto de desbalances en las respuestas inmunes ante el patógeno (Figura 5).

Las patologías asociadas con la infección por *H. pylori*

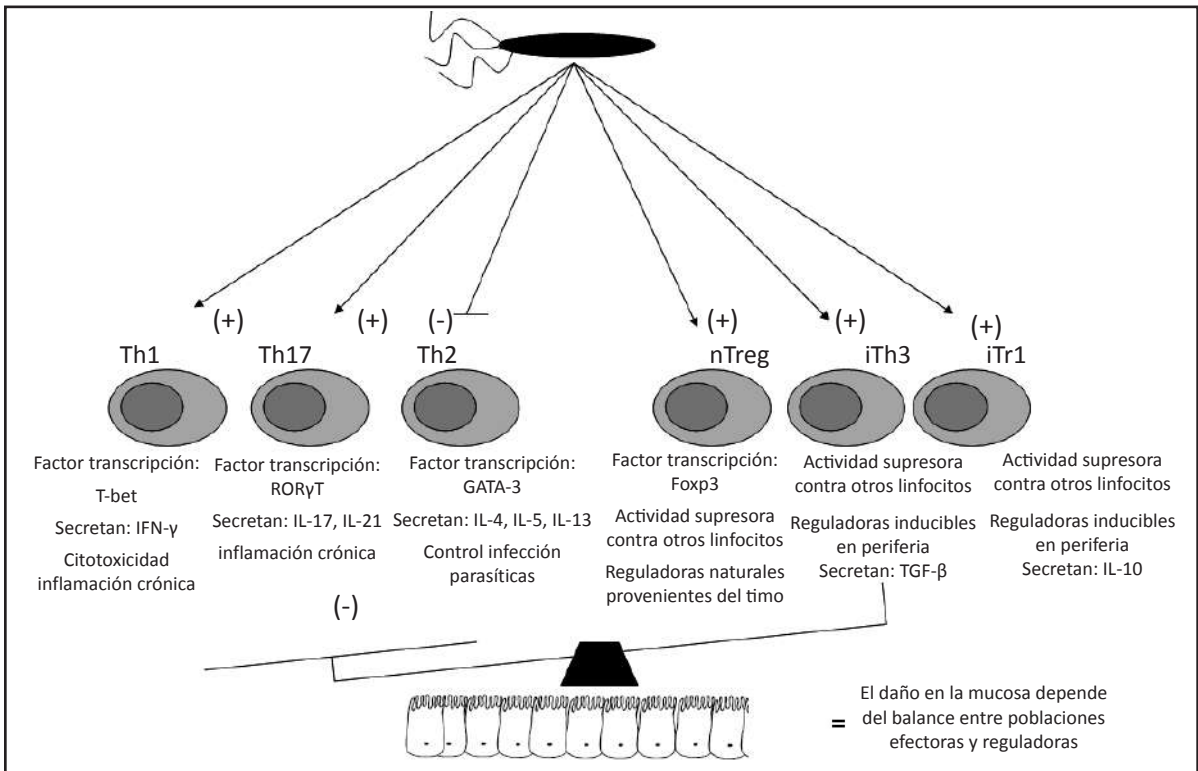


Figura 5. Respuesta inmune a la infección por *H. pylori*. La respuesta T helper gatillada por *H. pylori* se caracteriza por la inducción de distintos subtipos celulares. Una respuesta del tipo Th1 y Th17 es característica de los individuos en la adultez y se caracteriza por la secreción de IFN-γ y IL-17, por el reclutamiento de efectores como linfocitos citotóxicos y neutrófilos respectivamente. *H. pylori* es también capaz de inducir una respuesta regulatoria y es el balance entre estos tipos celulares el que determina la extensión del daño generado por la respuesta inmune frente a la infección. Th: T helper; IFN: interferón; IL: interleuquina.

son de alta complejidad y no existe hasta el momento un marcador tanto a nivel de la bacteria como del hospedero que defina el desarrollo clínico de la infección. La presencia de factores de virulencia, los polimorfismos en determinadas citoquinas, el infiltrado inflamatorio y el tipo de respuesta T helper observada, además de factores externos como el consumo de alcohol, tabaco y la alimentación cumplen papeles fundamentales como factores de riesgo en el desarrollo de patologías de mayor gravedad y es la relación particular entre estos factores lo que contribuye de manera diferencial a la evolución de la infección por *H. pylori* en un individuo en particular (17-19).

d) Alteraciones en la fisiología gástrica

d.1) Polimorfismos en citoquinas y el rol de *H. pylori* en la secreción de ácido

Existe evidencia tanto en modelos murinos como en datos derivados de estudios clínicos que apoyan la idea que la infección por *H. pylori* está asociada con perturbaciones en la fisiología gástrica que alteran la homeostasis del ácido en el estómago (Figura 6). El mecanismo mediante el cual *H. pylori* inhibe la secreción de ácido en el estómago es multifactorial y contempla tanto la inhibición directa de las células parietales por algún producto bacteriano no determinado y la inhibición indirecta como consecuencias de modificaciones en el patrón de citoquinas. En el modelo murino, tanto en ratones como en gerbos, la sobreproducción de la citoquina proinflamatoria IL-1 β se ha asociado con alteraciones de la homeostasis de ácido. La sobreexpresión localizada en el estómago de esta citoquina bajo el control del promotor de la H⁺/K⁺ ATPasa, genera cambios en la mucosa gástrica que comprenden desde la disminución de la secreción de ácido al desarrollo progresivo de los cambios morfológicos característicos del proceso de carcinogénesis. La progresión histológica observada en la mucosa gástrica de estos ratones contempla el desarrollo de gastritis crónica seguida de atrofia, y metaplasia e imita el desarrollo de la carcinogénesis en humanos. La infección concomitante con *H. pylori*

acelera el proceso al contribuir con el aumento de la inflamación en respuesta a la infección. *H. pylori* es capaz por sí sólo de provocar en los gerbos un aumento de la secreción gástrica de IL-1 β que incide en el desarrollo de hipoclorhidria. Esta disminución del ácido gástrico es revertida por la administración de antagonistas del receptor de IL-1 β . Estudios *in vitro* demuestran que las citoquinas IL-1 β y TNF- α , ambas producidas *in vivo* en respuesta a la infección por *H. pylori*, son capaces de generar en cultivos la inhibición de la secreción de ácido por células parietales, disminución de la secreción de histamina por las células enterocromafines y un aumento de la secreción de gastrina por las células G. La infección por *H. pylori* en humanos se correlaciona *in vivo* con niveles plasmáticos elevados de gastrina y con niveles gástricos bajos de somatostatina (regulador negativo de la secreción de gastrina). La respuesta inflamatoria asociada con la infección caracterizada por la secreción de citoquinas y quimoquinas genera alteraciones en la mucosa gástrica y se ha descrito el desarrollo de hipoclorhidria tanto a nivel agudo como crónico de la infección. La presencia de polimorfismos en el cluster para IL-1, que contempla polimorfismos tanto en IL-1 β como en IL-1RN que codifica para el antagonista del receptor de IL-1 β , están asociados en último término con un aumento en la secreción de esta citoquina en respuesta a la infección por *H. pylori*. Estos cambios han sido correlacionados a nivel poblacional con aumentos del desarrollo de alteraciones de la fisiología gástrica conducentes a hipoclorhidria y a un mayor riesgo de desarrollo de cáncer gástrico. Adicionalmente, los polimorfismos para las citoquinas TNF- α y IL-10 han sido correlacionados a su vez con aumentos del riesgo de desarrollo de neoplasias. La presencia de varios polimorfismos indicativos de un perfil proinflamatorio incrementa de manera progresiva el riesgo de contraer cáncer gástrico, lo que implica que los genes que codifican para las citoquinas efectoras y reguladoras características de los distintos conjuntos de células Th son fundamentales para el desarrollo de las patologías asociadas con la infección (9,17,20).

d.2) Alteraciones en el metabolismo del hierro asociadas con la infección por *H. pylori*

Una de las alteraciones nutricionales de mayor relevancia en países en vías de desarrollo es la deficiencia de hierro, que muestra prevalencias de alrededor del 39% para las edades desde 0 a 4 años y de 48% para las edades entre 5 y 14 años. La anemia provocada por la deficiencia de hierro (IDA) es una de las manifestaciones clínicas de mayor importancia asociadas con la deficiencia de este metal, dado que en estadios avanzados genera incrementos de la mortalidad infantil, una mayor propensión a enfermar y retardo en el crecimiento y el desarrollo neurológico de la población pediátrica susceptible.

Existe evidencia proveniente de estudios de casos, de estudios epidemiológicos observacionales y un número limitado de intervenciones que asocian la presencia de la infección por *H. pylori* con el desarrollo de IDA, en particular en los casos en que ésta es refractaria a la suplementación por hierro. Los niveles de hierro sanguíneo son evaluados en general por la concentración sérica de hierro o por los niveles plasmáticos de ferritina.

El mecanismo biológico mediante el cual la infección por *H. pylori* contribuye al desarrollo de IDA es multifactorial y actualmente se encuentra en estudio (Figura 6). Comprende en parte, alteraciones provocadas en la fisiología de la mucosa gástrica como

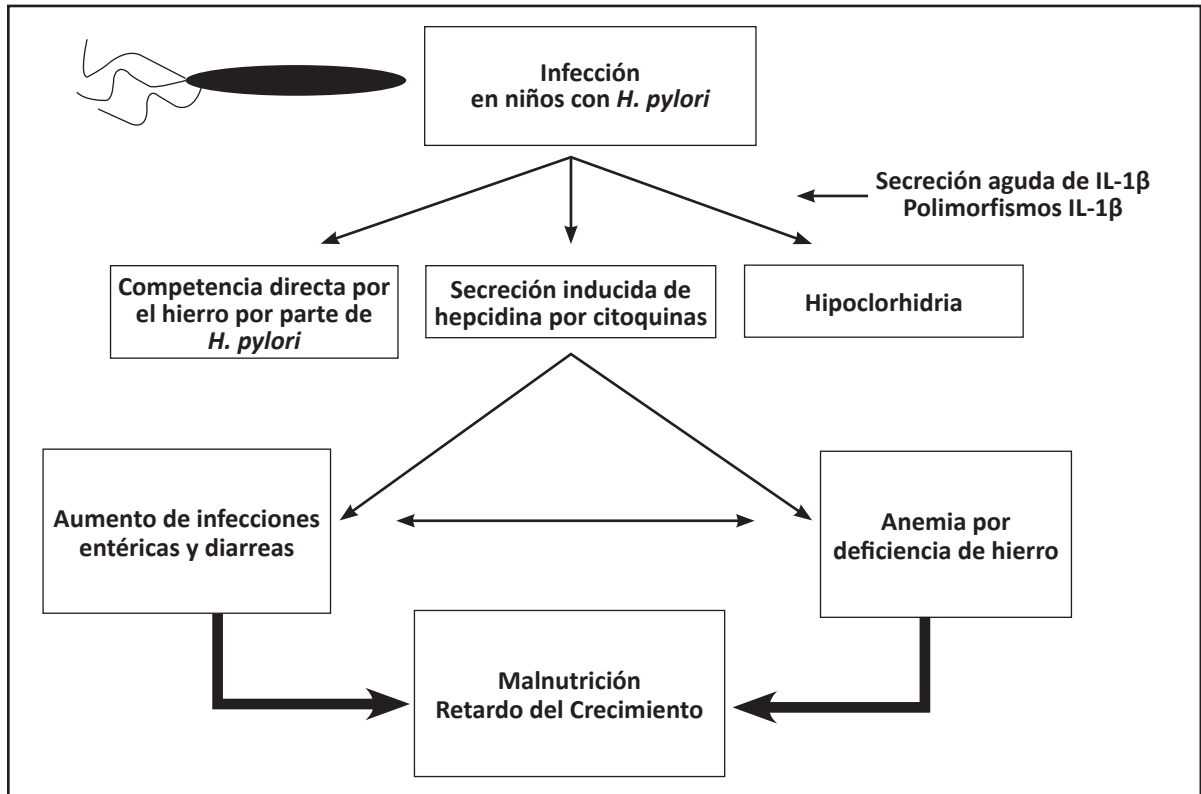


Figura 6. Efecto de la infección por *H. pylori* en el metabolismo del hierro. *H. pylori* contribuye al desarrollo de IDA al generar alteraciones de la fisiología de la mucosa gástrica, alteraciones del metabolismo del hierro y competencia directa por el hierro biodisponible en el estómago por parte de la bacteria. El desarrollo de IDA en la niñez puede traer como consecuencias el aumento de las enfermedades diarreicas, malnutrición y retardo en el crecimiento por lo cual se constituye en un problema de salud pública en países en vías de desarrollo. IL: interleuquina.

consecuencia de la infección, alteraciones en el metabolismo del hierro, como también competencia directa por el hierro biodisponible en el estómago por parte de la bacteria. Modificaciones en la fisiología gástrica, como las alteraciones provocados en el pH gástrico y en la concentración de ácido ascórbico por la presencia de *H. pylori*, pueden limitar la absorción del hierro de la dieta en el tracto gastrointestinal al interferir con la reducción de la forma férrica a ferrosa del metal, lo que incide en el transporte a través del epitelio gastrointestinal. Adicionalmente, se ha descrito que la secreción de citoquinas que acompaña a una inflamación crónica, como ocurre con la infección por *H. pylori*, estimula la liberación del péptido hepcidina desde el hígado. Éste inhibe la liberación de hierro desde reservorios celulares como macrófagos y eritrocitos, resultando en una disminución del hierro disponible para la eritropoyesis y contribuyendo al desarrollo de IDA (Figura 6).

H. pylori requiere hierro para su crecimiento y la colonización de la mucosa gástrica. El crecimiento en condiciones de privación de hierro ocurre mediante un receptor para la lactoferrina humana expresado sólo en estas condiciones. Por otro lado, *H. pylori* es capaz de captar el hierro de la dieta en forma de citrato férrico a través de transportadores en su membrana externa codificados en el genoma bacteriano por los genes *FecA* y tres copias del receptor *FrpB*, homólogo al transportador de *Neisseria*. Se han descrito dos copias de la proteína periplasmática de unión a hierro *CeuE*. El paso desde el periplasma hacia el citoplasma se realiza mediante un sistema de transporte ABC codificado por los genes *FecD* y *FecF*, que dan origen a una permeasa de la membrana interna y a una proteína de unión a ATP, respectivamente. La forma ferrosa soluble, por el contrario, requiere en el modelo murino sólo la presencia de un transportador en la membrana interna de *H. pylori* codificado por el gen *FecB*, cuya presencia es fundamental para mantener la capacidad de colonizar la mucosa gástrica por la bacteria. Para el almacenaje de hierro se han descrito dos pro-

teínas. La ferritina *Pfr* sirve como depósito intracelular de hierro y evita la toxicidad generada por el exceso de hierro citoplasmático libre. La proteína *HP-NAP* es homóloga de las bacterioferritinas, lo que sugiere un papel en el almacenaje de este metal que aún no ha sido demostrado del todo.

La regulación del metabolismo de hierro en *H. pylori* contempla la expresión constitutiva de algunos de los sistemas de captación de hierro. La regulación de la captación en condiciones de exceso de hierro ocurre mediante un elemento de respuesta homólogo a los genes *fur*. La proteína *Fur* cumple la doble función de reprimir la captación de hierro en condiciones de exceso modificando la expresión de proteínas de importación de hierro presentes en la membrana externa de la bacteria. En ausencia de hierro regula además la expresión de proteínas de almacenaje como la *Fpr*, ferritina bacteriana. La caracterización del perfil proteómico de aislados bacterianos en pacientes infectados con *H. pylori* con IDA, difiere de aquellos que no la desarrollan, sugiriendo que polimorfismos a nivel de las cepas infectantes pueden contribuir probablemente al desarrollo de las alteraciones de los reservorios de hierro que influyen en la generación de IDA en determinados pacientes como resultado de la infección en conjunto con las alteraciones de la fisiología gástrica mencionados anteriormente (21-24).

d.3) Señalización vía Receptores Toll like y el papel de *H. pylori* en la inflamación crónica

El reconocimiento específico de patógenos microbianos ocurre mediante la interacción entre receptores de reconocimiento de patrones conservados (PRRs), cuya función primaria consiste en reconocer estructuras microbianas conservadas que son esenciales para la supervivencia y patogenicidad de los microorganismos, referidos como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Hasta la fecha se han descrito 11 TLR con distintas especificidades para subproductos microbianos como el LPS bacteriano, proteoglicanos, lipopéptidos y flagelinas entre otros. La señalización a través de TLRs conduce a

la activación de vías proinflamatorias caracterizadas por la translocación al núcleo de la forma activada del NF- κ B, AP-1 y la vía de las MAPK conducentes a la secreción de citoquinas proinflamatorias.

En la mucosa gástrica se ha descrito la expresión localizada en la cara apical y basolateral de las células epiteliales de TLR-2,4,5,9. La señalización a través de TLR juega un papel preponderante en la respuesta generada por la infección por *H. pylori*. En la progresión celular hacia el cáncer provocada por la inflamación crónica tanto *in vitro* como *in vivo*, en pacientes que presentan tanto metaplasia intestinal como adenocarcinoma se han descrito cambios en el patrón de localización de TLR-2 y 4 a un patrón difuso. La señalización vía TLR en respuesta a la infección por *H. pylori* y en particular por efecto del LPS, genera la activación de NF- κ B vía TLR-4/MD-2, los cuales se encuentran sobreexpresados en el epitelio gástrico de pacientes infectados. La activación de TLR-2 y 9 por otros subproductos bacterianos conduce a su vez a la activación de NF- κ B, de quinasas celulares relacionadas con oncogénesis como Src, de quimoquinas y mediadores proinflamatorios como IL-8, Cox-2 y PGE2, que contribuyen a la inflamación crónica. En el modelo murino, ratones deficientes para la señalización por TLR, tanto a nivel de los receptores o del adaptador Myd88, presentan niveles elevados de colonización bacteriana, disminución del infiltrado inflamatorio y de la producción de citoquinas en comparación con sus contrapartes wild type en respuesta a la misma dosis de desafío con *H. pylori*. Adicionalmente, determinados polimorfismos en el receptor TLR-4 en la zona de repeticiones ricas en leucina (TLR-4 Thr135ala) correlacionan con un riesgo aumentado de contraer cáncer gástrico en los pacientes infectados por *H. pylori*.

Los receptores NOD son capaces también de detectar el peptidoglicano de *H. pylori* generando la activación río abajo de NF- κ B y IL-8. Si bien no hay evidencia directa que involucre la señalización por receptores NOD con la patología generada por *H. pylori*, es posible que esta contribuya a la inflamación crónica que se describe como parte del proceso iniciático de la carcinogénesis del estómago (25-27).

d.4) Desarrollo de atrofia gástrica: papel de la detección precoz de la infección por *H. pylori* y su implicancia en la prevención del cáncer gástrico

En la actualidad es ampliamente aceptado que la infección por *H. pylori* se encuentra directamente asociada con el desarrollo del cáncer gástrico. Adicionalmente la presencia de la infección también se encuentra relacionada con la aparición de la atrofia gástrica, lesión considerada como un paso inicial en la progresión al adenocarcinoma (Figura 7). La prevalencia de las lesiones premalignas aumenta con la edad y es resultado del daño progresivo generado por la infección por *H. pylori*. Estudios epidemiológicos en distintas poblaciones a nivel mundial han demostrado que en general es posible encontrar evidencia de infección a partir de los títulos de anticuerpos contra epítopes bacterianos en la mayoría de los casos con gastritis atrófica demostrada mediante endoscopia. Existe evidencia que avala que en muchos casos es posible revertir lenta y paulatinamente la inflamación crónica de la mucosa del estómago y la atrofia al erradicar la bacteria.

La atrofia gástrica es una pérdida de las glándulas de la mucosa estomacal y resulta en alteraciones fisiopatológicas de gran envergadura. La gastritis atrófica en el cuerpo lleva a una disminución de la secreción de ácido clorhídrico mediada por la pérdida de las células parietales, mientras que si es de tipo predominantemente antral genera una desregulación de la secreción de gastrina 17 (Figura 3). Estas alteraciones llevan a la generación de un estómago con diversos grados de hipoclorhidria y con alteraciones en la secreción de proteasas gástricas que incluso genera alteraciones de los niveles séricos de pepsinógenos, sirviendo estos como un marcador no invasivo de la presencia de las lesiones atróficas.

En general el adenocarcinoma del estómago es considerado como una enfermedad silente y su diagnóstico ocurre en un gran número de casos de manera bastante tardía. La supervivencia a 5 años de estos pacientes es cercana al 10-20%. La detección precoz de la lesión atrófica aumenta dicho parámetro de supervivencia en un 90%, por lo que el tamizaje no invasivo de población en riesgo es de importancia

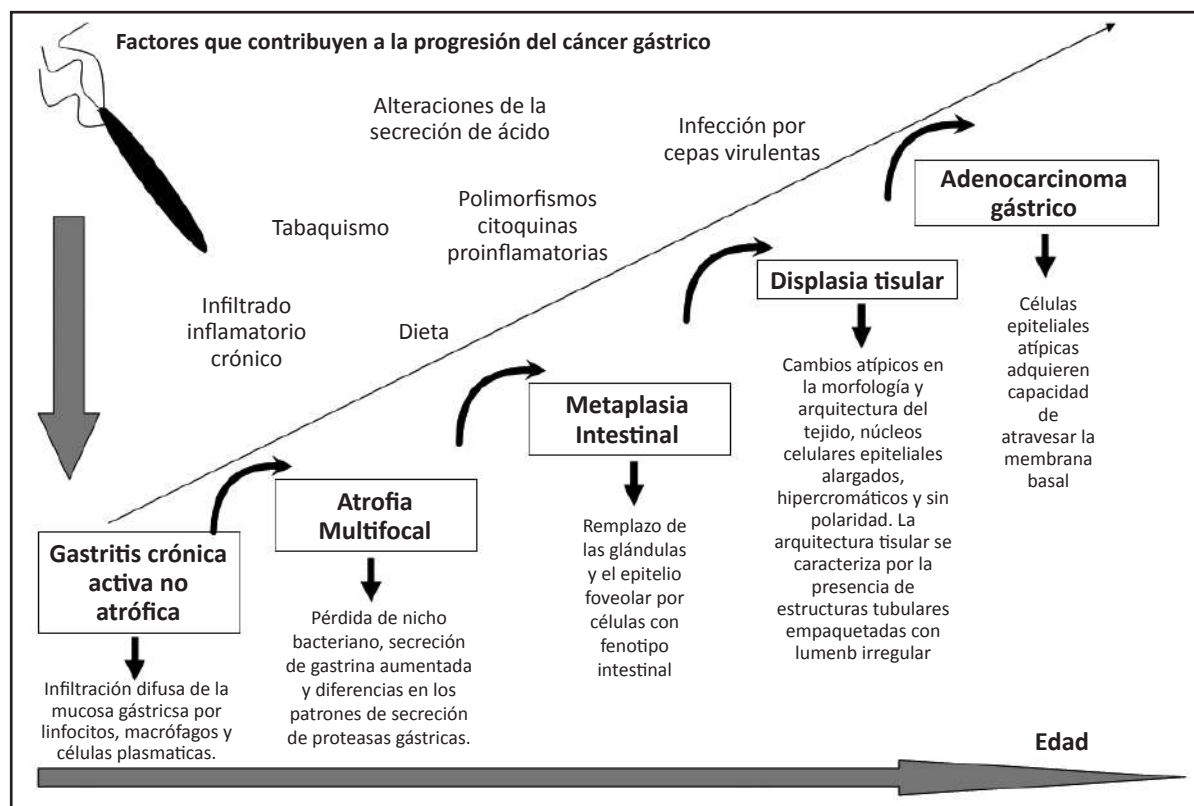


Figura 7. Etiopatogenia del cáncer gástrico. El desarrollo de adenocarcinomas del estómago ocurre a través de una progresión continua de múltiples eventos que incrementan en extensión e intensidad con el tiempo. La infección con cepas virulentas CagA+ y VacA+, determinados polimorfismos en citoquinas proinflamatorias, la dieta y hábitos de vida influyen de manera positiva en la progresión a cáncer gástrico. Esta progresión comienza con una gastritis crónica activa no atrófica que deriva en el desarrollo de múltiples focos atróficos a lo largo del estómago; posteriormente se observa el desarrollo de metaplasia intestinal, displasia tisular denominada también neoplasia intraepitelial y luego del adenocarcinoma del estómago.

mayúscula. El cáncer gástrico en Chile es la neoplasia maligna con mayor tasa de mortalidad anual, de alrededor de 19/100.000 habitantes. Hasta la fecha existen numerosas alteraciones que han sido reportadas como marcadores de atrofia gástrica, como cambios en la relación pepsinógenos A/C y concentraciones elevadas de gastrina en el suero, pérdida de la secreción de ácido en el estómago, supresión de la expresión de somatostatina, pérdida de la E-cadherina involucrada en la adhesión entre las células del epitelio y pérdida de la expresión del morfógeno Sonic Hedgehog encargado de regular la diferenciación de las células epitelia-

les tanto en el estómago fetal como en el adulto. Actualmente muchos de estos marcadores están siendo aplicados tanto en estudios clínicos como epidemiológicos, en busca de su validación para su utilización en clínica como métodos de tamizaje para la prevención del cáncer gástrico en países con alta prevalencia de esta enfermedad como varios países del eje Asia-Pacífico (28-30).

d.5) Progresión histológica a cáncer gástrico

Los eventos en la mucosa que llevan al desarrollo de adenocarcinoma del estómago están descritos detalladamente a nivel histológico y constituyen una

progresión continua de múltiples eventos que incrementan en extensión e intensidad con el tiempo (Figura 7). La progresión al cáncer gástrico comienza con una gastritis crónica activa no atrófica, caracterizada por una infiltración difusa de la mucosa gástrica por linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. Es posible encontrar también eosinófilos, mastocitos y neutrófilos. En la progresión a adenocarcinoma se observa la pérdida focal y progresiva de glándulas en la unión entre el antro y el cuerpo, relacionados directamente con la presencia de determinados productos bacterianos como Cag-PAI y VacA, adicional a la presencia de un ambiente proinflamatorio caracterizado por la secreción de citoquinas del tipo Th1. Asociado a la progresión temporal se observa a nivel de la mucosa el desarrollo de múltiples focos atróficos a lo largo del estómago que se caracterizan por una secreción aumentada de gastrina y por diferencias en los patrones de secreción de proteasas gástricas. Posteriormente se observa el desarrollo de metaplasia intestinal caracterizada por el remplazo de las glándulas y el epitelio foveolar por células que presentan un fenotipo de tipo intestinal. A medida que el daño avanza, se observa un tipo de metaplasia intestinal que se asemeja más a la mucosa, colónica caracterizado por un aumento en la expresión de mucinas de tipo intestinal. El siguiente paso contempla el desarrollo de la displasia tisular denominada también neoplasia intraepitelial caracterizada por cambios atípicos en la morfología y arquitectura del tejido. Los núcleos típicos de un epitelio displásico se caracterizan por ser alargados, hiper cromáticos y carentes de polaridad. La arquitectura tisular se caracteriza por la presencia de estructuras tubulares empaquetadas, con lumen irregular. La capacidad de estas células atípicas de atravesar la membrana basal define el paso al adenocarcinoma invasivo (Figura 7) (31).

Referencias

1. Schubert ML. Gastric secretion. *Curr Opin Gastroenterol.* 2008; 24:659-64.
2. Schubert ML, Peura DA. Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology.* 2008;134:1842-60.
3. Richter C, Tanaka T, Yada RY. Mechanism of activation of the gastric aspartic proteinases: pepsinogen, progastricsin and prochymosin. *Biochem J.* 1998;335:481-90.
4. Kageyama T. Pepsinogens, progastricsins, and prochymosins: structure, function, evolution, and development. *Cell Mol Life Sci.* 2002;59:288-306.
5. Gritti I, Banfib G, Roib GS. Pepsinogens: Physiology, Pharmacology Pathophysiology And Exercise Pharmacol Res. 2000; 41 265-281.
6. Tomb JF, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature.* 1997; 388:539-47
7. Coelho LG, León-Barúa R, Quigley EM. Latin-American Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection. Latin-American National Gastroenterological Societies affiliated with the Inter-American Association of Gastroenterology (AIGE).
8. Lehours P, Yilmaz O. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2007;12 Suppl 1:1-3. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:2688-91.
9. Amieva MR, El-Omar EM. Host-bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology.* 2008;134:306-23.

10. Montecucco C, Rappuoli R. Living dangerously: how *Helicobacter pylori* survives in the human stomach. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001;2:457-66.
11. Clyne M, Dolan B, Reeves EP. Bacterial factors that mediate colonization of the stomach and virulence of *Helicobacter pylori*. *FEMS Microbiol Lett.* 2007;268:135-43.
12. Evans DJ Jr, Evans DG. *Helicobacter pylori* adhesins: review and perspectives. *Helicobacter.* 2000;5:183-95.
13. D'Elíos MM, Montecucco C, de Bernard M. VacA and HP-NAP, Ying and Yang of *Helicobacter pylori*-associated gastric inflammation. *Clin Chim Acta.* 2007;381:32-8.
14. Hatakeyama M. Oncogenic mechanisms of the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Nat Rev Cancer.* 2004;4:688-94.
15. Hatakeyama M. SagA of CagA in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Curr Opin Microbiol.* 2008;11:30-7.
16. Cover TL, Blanke SR. *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nat Rev Microbiol.* 2005;3:320-32.
17. Wilson KT, Crabtree JE. Immunology of *Helicobacter pylori*: insights into the failure of the immune response and perspectives on vaccine studies. *Gastroenterology.* 2007;133:288-308.
18. Caruso R, Pallone F, Monteleone G. Emerging role of IL-23/IL-17 axis in H pylori-associated pathology. *World J Gastroenterol.* 2007;13:5547-51.
19. Harris PR, Wright SW, Serrano C, Riera F, Duarte I, Torres J, Peña A, Rollán A, Viviani P, Guiraldes E, Schmitz JM, Lorenz RG, Novak L, Smythies LE, Smith PD. *Helicobacter pylori* gastritis in children is associated with a regulatory T-cell response. *Gastroenterology.* 2008;134:491-9.
20. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KEL, Bream JH, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature.* 2000; 404:398-402
21. Windle HJ, Kelleher D, Crabtree JE. Childhood *Helicobacter pylori* Infection and Growth Impairment in Developing Countries: A Vicious Cycle? *Pediatrics.* 2007; 119: e754-e759.
22. Muhsen K, Cohen D. *Helicobacter pylori* Infection and Iron Stores: A Systematic Review and Meta-analysis. *Helicobacter.* 2008; 13:323-40.
23. Weiss G. Iron metabolism in the anemia of chronic disease. *Biochim Biophys Acta* 2008 in press.
24. Belzer C, Stoof J, van Vliet A. Metal-responsive gene regulation and metal transport in *Helicobacter* species. *Biometals.* 2007; 20:417-429.
25. Fukata M, Abreu MT. Role of Toll-like receptors in gastrointestinal malignancies. *Oncogene.* 2008;27:234-43.
26. Rad R, Brenner L, Krug A, Voland P, Mages J, Lang R, Schwendy S, Reindl W, Dossumbekova B, Ballhorn W, Wagner H, Schmid Rm, Bauer S, Prinz C. Toll-Like Receptor-Dependent Activation of Antigen-Presenting Cells Affects Adaptive Immunity to *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 2007;133:150-163.
27. Boneca IG. The role of peptidoglycan in pathogenesis. *Curr Opin Microbiol.* 2005; 8:46-53.
28. Sipponen P, Graham DY. Importance of atrophic gastritis in diagnostics and prevention of gastric cancer: application of plasma biomarkers. *Scand J Gastroenterol.* 2007; 42:2-10.

29. de Vries AC, Kuipers EJ. Epidemiology of pre-malignant gastric lesions: implications for the development of screening and surveillance strategies. *Helicobacter*. 2007;12 Suppl 2:22-31.
30. Zavros Y. The Adventures of Sonic Hedgehog in Development and Repair. IV Sonic hedgehog processing, secretion, and function in the stomach. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008; 294: G1105–G1108.
31. Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 200; 133(2):659-72.

Absorción intestinal del agua y los electrolitos

Martin Gotteland

El epitelio que recubre las mucosas intestinal y colónica forma una monocapa polarizada constituida por distintos tipos celulares. Este epitelio funciona como una barrera selectiva que por una parte permite el transporte vectorial (direccional) de nutrientes, agua y electrolitos mientras que, por otra parte, impide el acceso al compartimento sistémico de microorganismos, toxinas, y antígenos potencialmente dañinos presentes en el lumen. Existen dos vías de paso a través del epitelio: la vía transcelular a través de las células epiteliales y la vía paracelular entre dichas células (Figura 1). La polarización del epitelio y su permeabilidad están determinadas principalmente por la presencia de uniones estrechas (UE, “tight junctions” en inglés) que unen las células epiteliales entre sí a nivel apical. Las UE son estructuras complejas que involucran a un gran número de proteínas transmembranares (occludinas, claudinas, ZO-1, etc.) ubicadas en dominios raft de la membrana, los cuales participan en fenómenos de transducción de señales. Estas proteínas están conectadas entre sí y con otras proteínas intracelulares, en particular con los complejos de actina y miosina de la malla terminal; las proteínas de la UE forman en el espacio intercelular una red de poros cuyos diámetro y profundidad variables determinan el grado de permeabilidad de la vía paracelular. La permeabilidad del epitelio en su globalidad está determinada en un 80% por la permeabilidad de la vía paracelular. La profundidad de las UE es mayor en los segmentos distales del tubo digestivo (colon) que en su parte proximal (duodeno) y en consecuencia, el epitelio del duodeno y del yeyuno es más permeable que el

del colon. En el intestino delgado la profundidad de las UE es también mayor a nivel de los enterocitos de las vellosidades que entre aquellos de las criptas por lo cual el epitelio de estas últimas es considerado como más permeable que el de las vellosidades. Por otra parte, las UE delimitan dos compartimentos membranares en el enterocito: el compartimento apical (también llamado mucoso o luminal) y el compartimento basolateral (seroso o sistémico) que difieren entre sí por su estructura, composición bioquímica y función. Las UE son catión-selectivas debido a que en niveles fisiológicos de pH algunas de las proteínas que las componen poseen cargas negativas; esta característica favorece la distribución asimétrica de los electrolitos y permite la generación de una diferencia de potencial, V (expresada en milivoltios, mV) entre ambos compartimientos del epitelio, lo que contribuye a su polarización. Este fenómeno está reforzado además por la presencia de la Na^+/K^+ ATPasa en la membrana basolateral, que bombea el Na^+ intracelular hacia el espacio intercelular, intercambiándolo por K^+ (en una relación de 3 Na^+ por 2 K^+). Este proceso, ATP-dependiente e inhibido por la ouabaína, permite mantener bajas las concentraciones de sodio en el citoplasma de las células. Cabe destacar que la gradiente de concentración de sodio generada por este proceso constituye la principal fuerza electromotriz utilizada por muchos sistemas de transporte activo secundario de nutrientes, tales como los implicados en la absorción de glucosa (SGLT-1), aminoácidos, vitaminas, ácidos grasos volátiles y también de las sales biliares. Parte del Na^+ secretado a nivel basolateral pue-

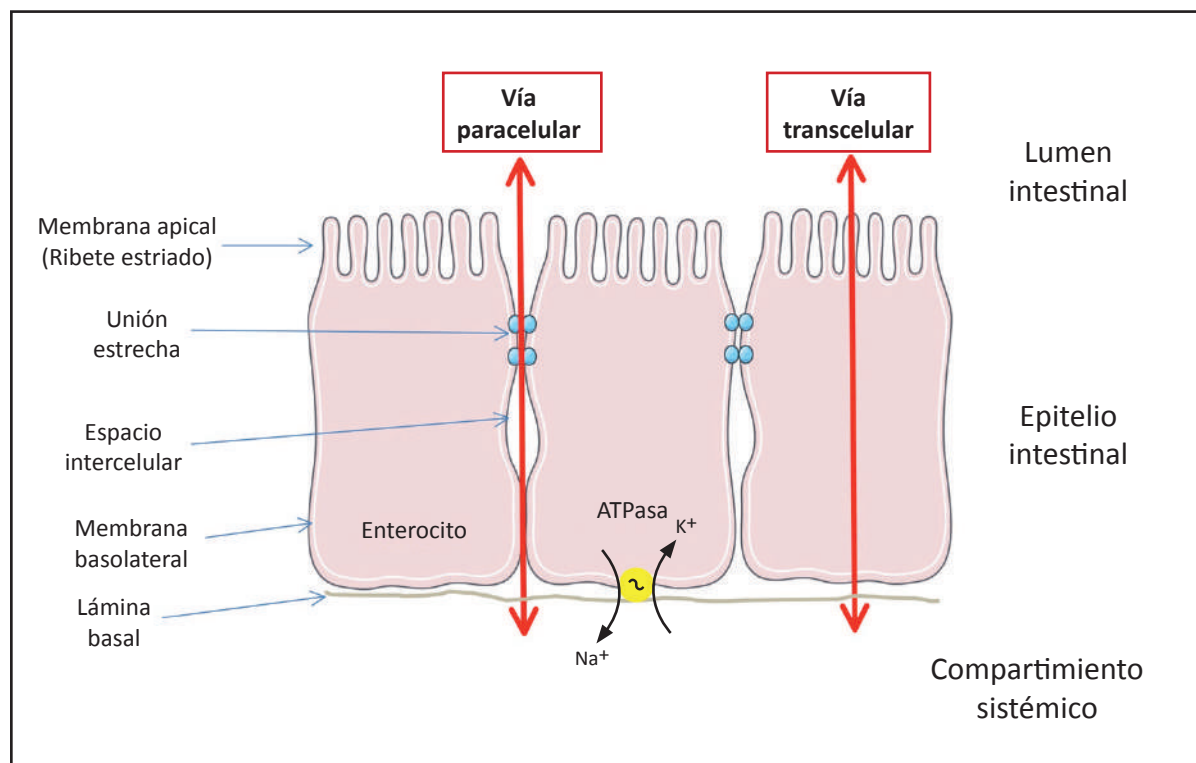


Figura 1: Vías transcelular y paracelular de paso del agua y de los electrolitos a través del epitelio intestinal.

de difundir en forma retrógrada hacia el lumen intestinal a través de la vía paracelular. Por lo tanto, se puede considerar que el epitelio intestinal funciona como una membrana semipermeable similar a un circuito eléctrico caracterizado por una diferencia de potencial y una resistencia iónica, R_i (expresada en ohm). Dicha resistencia iónica refleja la capacidad del epitelio para limitar el paso de electrolitos y, por lo tanto, para mantener una diferencia de potencial elevada; correlativamente, la conductancia iónica ($g = 1/R_i$) refleja la facilidad con que los electrolitos pueden atravesar el epitelio. Estos parámetros electrofisiológicos, estrechamente correlacionados con la estructura de las UE y su grado de permeabilidad, permiten diferenciar al epitelio colónico (que tiene una V y R_i altas) considerado como “cerrado” (tight) o impermeable, del epitelio duodenal (con una V y

R_i bajas) considerado como “no cerrado” (leaky) o permeable. Por lo tanto en el epitelio del tubo digestivo existe un gradiente próximo-distal de polarización y de permeabilidad, que se relaciona en forma estrecha con sus funciones de transporte de agua y electrolitos y de barrera; se estima que el diámetro de los poros de las UE es alrededor de 8 Å en el yeyuno, 3 Å en el íleon y 2 Å en el colon. Cabe destacar que las alteraciones de la función intestinal de barrera se asocian generalmente con el desarrollo de procesos inflamatorios en la mucosa inducidos por la mayor exposición a antígenos, sales biliares, microorganismos, etc., presentes en el lumen. El hecho que algunas de las proteínas de las UE estén relacionadas con los complejos de acto-miosina presentes en el enterocito, hace que la contracción de dichos complejos resulte en la modulación de la “apertura”

de las UE. Este fenómeno favorece los movimientos transepiteliales de agua y electrolitos que ocurren en el intestino proximal, en particular durante el período postprandial, y también favorecería el transporte paracelular de moléculas de pequeño tamaño (mono- o disacáridos, di- o tripéptidos) mediante el fenómeno de “solvent drag”, es decir, por arrastre por solvente. En consecuencia, las UE del epitelio del intestino delgado deben ser consideradas como estructuras dinámicas, cuya permeabilidad o apertura puede ser regulada fisiológicamente por la presencia de nutrientes en el lumen o a través de la liberación de factores endógenos como la zonulina (un precursor de la haptoglobina-2) por las células epiteliales. Los niveles circulantes de zonulina se correlacionan con el grado de permeabilidad del epitelio intestinal y ambos parámetros están significativamente elevados en los pacientes con enfermedades auto-inmunes o inflamatorias (como en la enfermedad celíaca o en la diabetes de tipo 1, por ejemplo), ilustrando la importancia de este mecanismo de regulación de las UE en el desarrollo de estas patologías.

Movimientos del agua y los electrolitos en el tubo digestivo

El organismo de un individuo adulto sano contiene aproximadamente 60% de agua (~42 L en el caso de un individuo de 70 Kg); sin embargo, dicho contenido puede variar desde el 40%, en el caso de los sujetos obesos, que tienen más grasa y por lo tanto menos agua, al 70% en el caso de los deportistas que poseen mayor masa muscular y menos grasa. Los recién nacidos también tienen un mayor contenido de agua corporal (~70%) lo que los hace más susceptibles a los fenómenos de deshidratación. El agua corporal se encuentra repartida principalmente en tres compartimientos: el agua intracelular (~67% del agua, es decir ~28 L), el agua intersticial (~25% o sea ~10,5 L) y el plasma (~8% o sea ~3,5 L). En términos generales se considera que los fenómenos de absorción de agua y electrolitos ocurren a nivel de las vellosidades mientras que aquellos de tipo

secretorio se realizan a nivel de las criptas. Dos principios importantes gobiernan estos mecanismos. El primero es que el agua sigue en forma pasiva los movimientos de absorción o secreción de los electrolitos a través del epitelio intestinal. El segundo es que el transporte de electrolitos es globalmente electro-neutro, es decir, que no se produce transferencia neta de cargas eléctricas a través del epitelio. Esto significa que, por ejemplo, la absorción de un catión es acompañada por la de un anión, independientemente de su vía de absorción (trans- o paracelular). Cabe destacar que existen permanentemente movimientos bidireccionales (lumen → compartimento sistémico y compartimento sistémico → lumen) de agua y electrolitos a través del epitelio intestinal. La suma algebraica de estos movimientos define el resultado final, absorción o secreción: en situaciones fisiológicas prevalece la absorción.

Se estima que diariamente se vacían al tubo digestivo entre 6 a 10 L de agua; alrededor de 1,5 L son aportados por los alimentos mientras que 4,5 a 8,5 L provienen de las secreciones digestivas. La mayoría de esta agua es reabsorbida por el intestino de tal manera que sólo ~0,1 L se elimina cada día por las deposiciones. Tomando en cuenta que sólo tiene 25 cm de largo, el duodeno es el segmento más eficiente en cuanto a reabsorber agua: alrededor de 3 L/día, mientras que el yeyuno reabsorbe 1 a 2 L y el íleon y el colon alrededor de 1 L cada uno. Cabe destacar, sin embargo, que la capacidad máxima de reabsorción del tubo digestivo es mucho mayor, ya que puede alcanzar los 18 L/d de los cuales 5 a 6 L lo son por el colon. La gran capacidad de reabsorción de agua por el colon es de particular importancia en el caso de las diarreas profusas.

Estudios de perfusión yeyunal e ileal realizados en sujetos jóvenes alimentados con comidas estandarizadas han permitido determinar las fluctuaciones diarias de los flujos de líquidos en el intestino. Se ha observado la existencia de un flujo basal de líquido (correspondiente a los periodos inter-prandiales) de alrededor de 1,8 ml/min a nivel yeyunal y 0,75 ml/min en el íleon, que aumenta durante los periodos post-prandiales hasta alcanzar los 3-5 ml/min y 2-2,5

ml/min, respectivamente. Por lo tanto, durante el día existe en el tubo digestivo un flujo permanente de agua que es necesario para mantener el ambiente hidrofílico requerido para el buen funcionamiento de los procesos digestivos. Cualquiera sea la osmolaridad del contenido gástrico, el líquido que recibe el intestino es prácticamente siempre isotónico con el plasma. La perfusión intestinal con soluciones hiper- o hipotónicas de Na^+ o de K^+ , muestran que las concentraciones intraluminales de estos electrolitos tienden a equilibrarse rápidamente con sus concentraciones plasmáticas y que las cantidades de agua transportadas a través del epitelio son proporcionales a las concentraciones iniciales de estos iones en el lumen. La regulación de la osmolaridad intraluminal se realiza principalmente a nivel duodenal gracias a que el epitelio de este segmento intestinal es más permeable (tiene una conductancia iónica alta y una diferencia de potencial baja), lo que favorece los movimientos de agua, sodio y potasio a través de la vía paracelular. En el período postprandial, los nutrientes liberados en el lumen por los procesos de digestión (glucosa, fructosa, aminoácidos) aumentan la osmolaridad intraluminal, lo cual favorece la secreción de agua; sin embargo, estos mismos nutrientes también estimulan la reabsorción de agua mediante la activación de mecanismos de transporte activo como SGLT-1 o transportadores de aminoácidos. En los segmentos distales del tubo digestivo, la absorción continua de los nutrientes disminuye la carga osmótica del contenido intraluminal, haciendo menos necesarios los movimientos de agua a través del epitelio. Por otra parte, la presencia de los alimentos en el lumen duodenal también estimula la secreción de hormonas digestivas que pueden disminuir la reabsorción de agua (secretina, gastrina, CCK) o estimular su secreción (VIP), contribuyendo a regular el flujo de líquido en el lumen.

Mecanismos de absorción de sodio

La cantidad de sodio aportada por la dieta es cercana a los 150 mEq/día; a esta cantidad hay que agregar alrededor de 600 mEq/día provenientes de las secreciones digestivas. La concentración intraluminal de sodio varía desde 145 meq en el duodeno, 125 mEq en el íleon a 40 mEq en el colon, con una concentración cercana a 5 mEq en las deposiciones. En el período postprandial el sodio presente en el lumen puede entrar al enterocito por difusión pasiva gracias a la gradiente de concentración favorable que existe entre ambos compartimentos (baja concentración intracelular de sodio) y por el hecho que el interior de la célula también es más electronegativo que la parte extracelular luminal. Además existen varios mecanismos de transporte de este catión que involucran a proteínas transportadoras específicas presentes en el ribete estriado de los enterocitos.

a) Cotransporte de Na^+ acoplado con moléculas orgánicas

Son mecanismos de transporte activo secundario que utilizan la gradiente de Na^+ como fuerza electromotriz; se trata de transportes electrogénicos ya que una sola carga positiva atraviesa la membrana apical desde el lumen hacia el interior del enterocito. A continuación el Na^+ es secretado hacia el compartimiento sistémico por la Na^+/K^+ -ATPasa. Dicha absorción transcelular de Na^+ es acompañada por la absorción paracelular de Cl^- , de manera que se respeta el principio de electroneutralidad (globalmente se trata de una absorción de NaCl). El transporte de sodio acoplado con moléculas orgánicas existe a nivel duodeno-yeyunal y es particularmente activo en el período postprandial, permitiendo la absorción de los monosacáridos (glucosa y galactosa) y aminoácidos liberados por los procesos digestivos (Figura 2a). El cotransportador glucosa- Na^+ (SGLT-1) funciona de la siguiente manera (Figura 3): en su estado inicial el cotransportador está orientado hacia el lumen y tiene baja afinidad por la glucosa. Al comienzo del período postprandial, existe una alta concentración

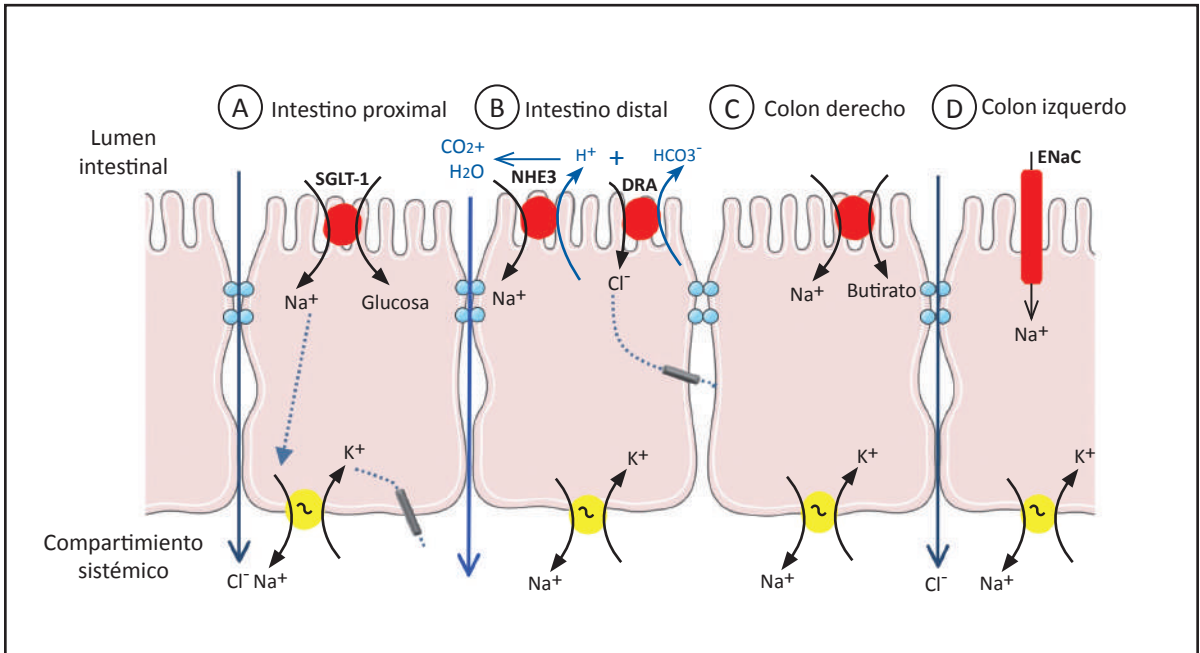


Figura 2: Mecanismos de absorción de sodio a lo largo del tubo digestivo.

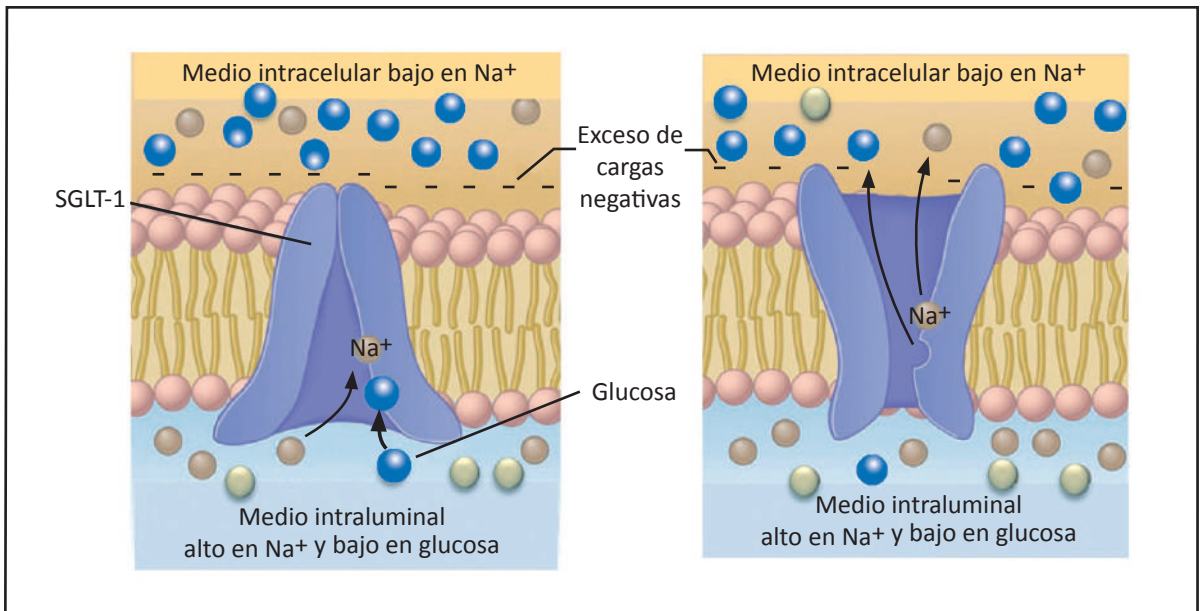


Figura 3: Funcionamiento del cotransportador glucosa/sodio (SGLT-1).

de Na^+ y una baja concentración de glucosa en el lumen duodenal. El Na^+ (2 iones) se une primero al transportador, que porta cargas negativas, aumentando su afinidad para la glucosa. La fijación de la glucosa induce el cambio conformacional de SGLT1 hacia el interior del enterocito donde la concentración de sodio es baja. Esto favorece la liberación del Na^+ desde SGLT-1 hacia el citoplasma, disminuyendo la afinidad del transportador por la glucosa, que es liberada a su vez al medio intracelular. Liberado de sus ligandos, el transportador retorna a su conformación original. Es importante destacar que SGLT-1 sigue funcional durante los episodios de diarrea, lo que representa la base fisiológica del uso clínico de las soluciones de rehidratación oral.

Por otra parte, existen también mecanismos de transporte activo de sodio acoplados con vitamina C (en el yeyuno e íleon), sales biliares (en el íleon) y ácidos grasos volátiles, en particular butirato, en el colon derecho (Figura 2c). En sujetos con cólera se ha observado que la adición de almidón resistente a la digestión a soluciones de rehidratación oral, permite aprovechar este último mecanismo de cotransporte; en este caso, la fermentación del almidón resistente por la microbiota intestinal produce ácidos grasos volátiles que estimulan la absorción de Na^+ , aumentando la capacidad de reabsorción colónica de agua y favoreciendo la evacuación de deposiciones con mayor consistencia.

b) Absorción electroneutra de NaCl

Este mecanismo (Figura 2b) resulta del acoplamiento de dos intercambiadores (antiport), uno (NHE3) que permite la entrada de Na^+ al enterocito, intercambiándolo por H^+ y el segundo (DRA) que intercambia un Cl^- (que entra a la célula) por un HCO_3^- (que sale hacia el lumen). La resultante de ambos mecanismos es la absorción electroneutra de NaCl; a continuación ambos electrolitos salen hacia el compartimento sistémico gracias a la Na^+/K^+ -ATPasa y a un canal (o conductancia) de cloro en la membrana basolateral. Este mecanismo ocurre en la parte distal del intestino y constituye la mayor vía de absor-

ción de sodio en los períodos interprandiales. Cabe destacar que la absorción electroneutra de NaCl (y de agua) por las células de las vellosidades, puede ser inhibida en las diarreas secretoras por aumentos de segundos mensajeros intracelulares (AMPC, GMPc, Ca^{++}) inducidos por toxinas de microorganismos (toxina del cólera y toxina termolábil de *E. coli*, por ejemplo), fenómeno que amplifica la secreción de cloro y agua estimulada por estas mismas toxinas en las células de las criptas.

c) El canal de sodio

Se ha descrito la presencia de un canal de sodio (ENaC) en la membrana apical de los colonocitos del colon izquierdo (Figura 2d). La apertura de este canal y la subsecuente absorción electrogénica de Na^+ , son inhibidas por el diurético amilorida y estimuladas por la aldosterona, lo que indica que tiene un papel importante en la limitación de las pérdidas de sodio en las deposiciones y en la regulación de la volemia y la presión arterial. La abundancia de ENaC en la membrana apical es regulada indirectamente por los niveles de AMPc intracelular, que inhiben la actividad de la ubiquitina ligasa Nedd4-2, a cargo de su degradación. La entrada de sodio por este canal y a continuación su paso al compartimento sistémico están acompañados por la absorción paracelular de cloro.

Absorción y secreción de potasio

Los aportes de potasio por la dieta (~50 mEq/d) en relación con las cantidades endógenas de este electrolito secretadas por el tubo digestivo (~70 mEq/d), son mayores en comparación con el sodio. Se considera que el mecanismo de transporte intestinal de K^+ es principalmente pasivo y que puede ser explicado por su gradiente de concentración electroquímica: por ser su concentración intracelular elevada (~160 mEq/L), el K^+ tiende a difundir hacia el lumen intestinal. Por lo tanto, el intestino delgado absorbe sodio y secreta potasio y las concentraciones intraluminales de estos electrolitos evolucionan

en forma opuesta a lo largo del intestino delgado, comparadas con las del plasma. En el colon existe un mecanismo de secreción activa y electrogénica de K^+ mediante canales presentes en la membrana apical de los colonocitos; la acumulación intraluminal de K^+ es contrarrestada en el colon distal por una K^+/H^+ -ATPasa que reabsorbe activamente este catión al interior de la célula. El potasio es el catión predominante en las deposiciones, con una excreción fecal diaria cercana a los 10 mEq. En casos de diarrea secretora la excreción fecal de potasio puede aumentar debido a la estimulación de su secreción activa (estimulación de los canales mediante el aumento de los niveles intracelulares de segundos mensajeros, como el AMPc); en algunos casos, esta situación puede conducir al desarrollo de hipokalemia. En el caso de un exceso en la ingesta de potasio, la aldosterona estimula la Na^+/K^+ -ATPasa basolateral aumentando la incorporación de potasio a la célula y su posterior secreción al lumen.

Absorción y secreción de cloro y bicarbonato

a) Absorción de Cl^- y HCO_3^- y secreción de HCO_3^-

El cloro y el bicarbonato son absorbidos predominantemente en el duodeno y yeyuno. El cloro atraviesa el epitelio siguiendo al sodio en forma pasiva para mantener la electroneutralidad. Las concentraciones de cloro y bicarbonato en el lumen duodenal dependen de la importancia relativa de las secreciones gástrica y pancreática. El bicarbonato presente en el lumen se absorbe en forma indirecta: se combina con los protones secretados desde el enterocito por el intercambiador Na^+/H^+ presente en la membrana apical del enterocito formando ácido carbónico gracias a la anhidrasa carbónica. El H_2CO_3 producido se disocia en agua y CO_2 , el cual difunde al interior de la célula y pasa a la sangre antes de ser eliminado en el aire espirado a nivel pulmonar (Figura 2b). En los segmentos distales del intestino, los niveles de bicarbonato y cloro varían en forma

opuesta debido a la existencia de un intercambiador HCO_3^-/Cl^- que secreta bicarbonato intercambiándolo por cloro. Este fenómeno permite rescatar cloro y mantener constante el pH intracelular. Finalmente, el cloro y el bicarbonato alcanzan concentraciones similares a nivel ileal, cercanos a 60 mEq/L. La absorción de Na^+ y Cl^- se mantiene en el colon, en tanto que este órgano secreta HCO_3^- y K^+ . La diarrea puede aumentar las pérdidas de bicarbonato, aumentando el riesgo de acidosis metabólica.

b) Mecanismos de secreción de cloro

La secreción de cloro ocurre principalmente en las células de las criptas del epitelio intestinal. Este proceso permite mantener un flujo basal de agua en el tubo digestivo y facilita la eliminación de agentes patógenos presentes en la superficie del epitelio. La secreción de cloro involucra distintos mecanismos que actúan en forma coordinada (Figura 4): 1) un cotransportador electroneutro presente en la mem-

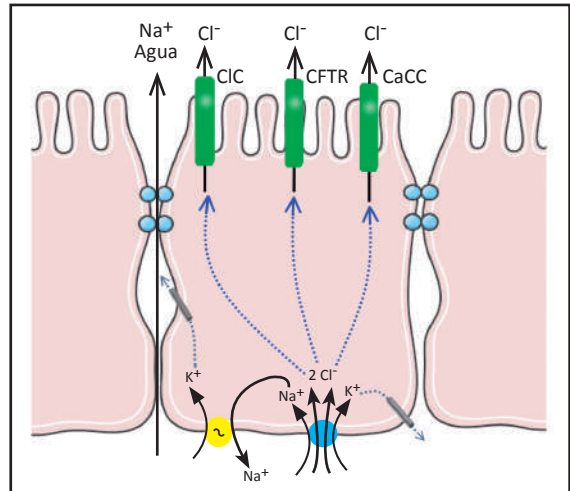


Figura 4: Mecanismos involucrados en la secreción de cloro por las células de las criptas del epitelio intestinal. Las células absorben Cl^- desde el compartimento sistémico mediante el cotransportador $Na^+K^+2Cl^-$ (NKCC) presente a nivel basolateral, y secretan Cl^- principalmente a través del canal apical CFTR. Otros canales de Cl^- (tales como CaCC y CIC) también podrían contribuir a este proceso. La salida hacia la circulación del Na^+ y del K^+ intracelular gracias a la Na^+/K^+ -ATPasa y al canal de K^+ , respectivamente, permite elevar la electronegatividad al interior de la célula. El Na^+ y el agua siguen por la vía paracelular los movimientos del Cl^- .

brana basolateral que hace entrar al enterocito un Na^+ y un K^+ junto con 2 Cl^- permitiendo a la célula abastecerse de cloro desde el compartimiento sistémico; 2) la Na^+K^+ -ATPasa presente en la membrana basolateral que mantiene concentraciones intracelulares de Na^+ bajas; 3) un canal de K^+ presente en la membrana basolateral que permite que este catión salga del enterocito; 4) canales de cloro presentes en la membrana apical que permiten la salida de este anión hacia el lumen. La secreción de cloro es un proceso electrogénico que es acompañado por la secreción paracelular de Na^+ (para mantener la electroneutralidad) y de agua. La entrada de cloro al citoplasma y la salida de Na^+ y de K^+ permite mantener en la célula un ambiente fuertemente electronegativo, que favorece la salida de cloro hacia el lumen cuando se abre el canal apical de cloro. La secreción de cloro a nivel apical se realiza principalmente por el canal CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) aunque otros canales de Cl^- (tales como CaCC y ClC) también podrían contribuir a dicha secreción. Cabe destacar que se ha descrito una gran variedad de mutaciones del gen del CFTR en los sujetos con fibrosis quística. Las mutaciones hacen que los epitelios donde se encuentran dichos canales se vuelvan ineficientes en la secreción de cloro y agua llevando a la acumulación de un mucus espeso en su superficie. A nivel del páncreas esta anomalía resulta en la obstrucción de los canalículos de la glándula exocrina y en su incapacidad de secretar adecuadamente sus enzimas y, a nivel pulmonar, en la obstrucción de las vías respiratorias. A nivel digestivo el sujeto afectado secreta menos agua; por esta razón, y debido a la alta prevalencia de mutaciones resultantes en la manifestación de la patología en la población, se ha propuesto que en tiempos ancestrales la contaminación microbiológica de los alimentos y del ambiente era mayor y que aquellos individuos que presentaban estas mutaciones habrían tenido menor riesgo de deshidratación en caso de episodios de diarrea y que, por lo tanto, puede haber representado una ventaja selectiva para los afectados. De acuerdo con estas observaciones, la expresión intestinal del canal CFTR es menor en el anciano mientras que la fre-

cuencia de constipación aumenta correlativamente en estos sujetos.

c) Mecanismos de activación de la secreción de cloro

Existen tres mecanismos principales cuya activación a nivel intracelular resulta en la secreción de cloro y agua hacia el lumen; implican la activación de la adenilciclase, de la guanilciclase y el aumento de los niveles intracelulares de calcio. En el sujeto sano, dichos mecanismos son estimulados por ligandos fisiológicos que regulan el transporte hidroelectrolítico a través del epitelio intestinal. En condiciones patológicas, en particular en el caso de procesos de inflamación y/o de infecciones por patógenos digestivos (*Escherichia coli* enterotoxigénica ETEC, *V. cholerae*, rotavirus), la estimulación excesiva de estos mecanismos puede resultar en la aparición de diarrea secretora.

El factor más estudiado en cuanto a su capacidad de estimulación de la adenilciclase es la sub-unidad A de la toxina de *V. cholerae* (Figura 5). Dicha toxina se une mediante sus sub-unidades B al gangliósido GM1 presente en la membrana apical del enterocito. A continuación la subunidad A de la toxina penetra a la célula y migra hacia la membrana basolateral donde se encuentra la adenilciclase. La toxina A ADP-ribosila la subunidad alfa de la proteína G heterotrimérica estimuladora, resultando en la activación de la adenilciclase y en el aumento de las concentraciones intracelulares de AMPc. Este compuesto activa una proteína quinasa A (PKA) AMPc dependiente, la cual fosforila el canal de cloro a nivel apical, activando su apertura. Cabe destacar que la activación de la adenilciclase por la toxina del cólera es irreversible y es tan potente que los pacientes con cólera pueden llegar a eliminar por las heces más de 20 L de agua en un día. Otros activadores de la secreción de cloro a través de este mecanismo son el VIP, la histamina, algunas prostaglandinas y el agonista forskolina que actúan a nivel de la membrana basolateral del enterocito; la toxina termolábil de *E. coli*, los ácidos biliares y los ácidos grasos hidroxilados actuarían a nivel apical.

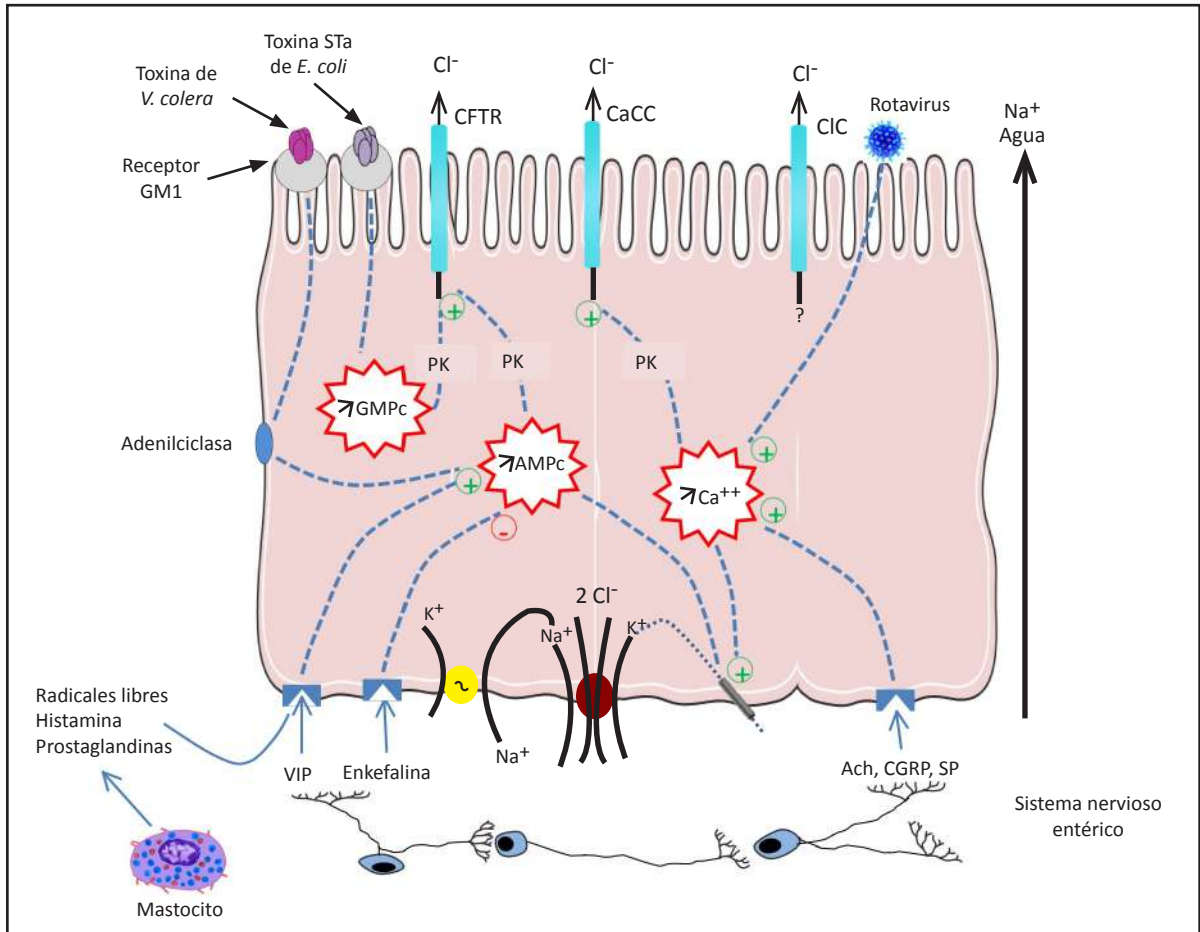


Figura 5. Mecanismos de regulación de la secreción de cloro. La presencia de patógenos o de sus toxinas (toxina de *V. cholerae*, toxina termoestable ST de *E. coli*, rotavirus), así como la liberación de distintos mediadores por células del sistema nervioso entérico (VIP, acetilcolina (ACh), sustancia P (SP), enkefalinas), o del sistema inmune/inflamatorio (serotonina, prostaglandinas, radicales libres, histamina) estimulan receptores presentes en las membranas apical y basolateral de las células epiteliales. Estas señales, mediante el aumento de segundos mensajeros (AMPc, GMPc, Ca^{2+}) y la activación de proteínas quinasa, inducen la apertura de los canales de cloro a nivel apical y la concomitante secreción de agua.

En forma similar a la acción de la toxina del cólera sobre la adenilciclase, la toxina termoestable (STa) de *E. coli* estimula la guanilciclase presente en la membrana basolateral del enterocito aumentando los niveles intracelulares de GMPc (Figura 5). Éste activa una PKA GMPc-dependiente que activa la apertura del canal de cloro mediante su fosforilación. Uno de los ligandos fisiológicos conocidos por estimular la guanilato ciclase es el péptido natriurético auricular.

Tanto los ácidos biliares (principalmente los deshidroxilados y los no-conjugados, que aumentan en caso de sobrecrecimiento bacteriano intestinal) y los ácidos grasos libres (principalmente aquellos hidroxilados y de cadena larga) a nivel apical, así como la acetilcolina y la serotonina a nivel basolateral, pueden estimular la secreción de cloro y de agua mediante el aumento de las concentraciones intracelulares de calcio (Figura 5). El calcio liberado des-

de el retículo endoplásmico liso se une a la calmodulina y el complejo calcio-calmodulina activa una PKA Ca^{++} -calmodulina-dependiente que fosforila un canal de cloro que es Ca^{++} -dependiente (CaCC). Paralelamente se estimula la salida de potasio por el canal basolateral, que contribuye a mantener la alta electronegatividad en el citoplasma del enterocito.

Transporte intestinal de agua

a) Por la vía paracelular

A nivel del tubo digestivo, el agua sigue en forma pasiva los movimientos de los electrolitos. Este movimiento depende del gradiente osmótico a través del epitelio: el agua se mueve hacia donde existe la mayor concentración de moléculas osmóticamente activas. De esta forma puede difundir hacia o desde el lumen para mantener el contenido intraluminal isoosmolar con el plasma. Se considera que en el colon, la absorción de agua se efectúa en forma hipertónica debido a la menor permeabilidad del epitelio, mientras que en el intestino proximal la absorción de agua ocurre en forma isotónica, principalmente (~80%) por la vía paracelular. El cloruro de sodio absorbido por los enterocitos o el que difunde por la vía paracelular pasan al espacio intercelular, donde permanecen debido a que la membrana basal, poco permeable a este compuesto, limita su difusión hacia el compartimiento sistémico (Figura 6). El agua sigue los movimientos del NaCl y se acumula también en el espacio intercelular, incrementando hasta tal punto la presión hidrostática en este compartimiento que finalmente permite el paso de la solución de NaCl a través de la membrana basal hacia la circulación y el sistema linfático.

b) Por la vía transcelular

En los años 90 se demostró la existencia de una familia de proteínas que forman canales específicos capaces de facilitar el movimiento transcelular de agua y que fueron denominadas acuaporinas (AQP). Se trata de proteínas formadas por 250 a 300 aminoácidos que tienen seis dominios transmembrana-rios conectados entre sí por lazos intra y extracelula-

res, cuyo plegamiento a cada lado de la membrana forma un poro por donde pasa el agua; las AQP están presentes en la membrana en grupos formados por cuatro poros (tetrámero). Estos canales, además de su papel en el paso transepitelial de agua también contribuyen a regular el volumen intracelular. En la actualidad se han descrito en los mamíferos una decena de AQP de las cuales las número 3, 4, 5, 8, 9 y 10 están presentes en el tracto gastrointestinal. Las AQP 3, 9 y 10 pertenecen a la familia de las acuagliceroporinas que, además de agua, son capaces de transportar moléculas de pequeño tamaño sin cargas eléctricas como, por ejemplo, el glicerol o la urea. En el intestino delgado, los enterocitos de las vellosidades expresan la AQP3 en su ribete estriado y la AQP8 está presente en vesículas intracelulares, mientras que la AQP4 se encuentra en la membrana apical de las células de las criptas. En el colon, el epitelio de las criptas puede absorber agua en forma hipertónica a través de mecanismos transcelulares que implican a las AQP. En el ser humano se ha demostrado la presencia de AQP3 en la membrana apical de los colonocitos mientras que en la rata este canal está presente a nivel basolateral; además los colonocitos de la rata también expresan la AQP4 en su membrana apical y AQP8 en vesículas intracelulares. Se ha propuesto que el aumento de los niveles intracelulares de AMPc o de Ca^{++} inducido por distintos estímulos externos podría activar la expresión y síntesis de AQP, las cuales pueden ser almacenadas en vesículas intracelulares o insertadas en la membrana apical y/o basolateral de la célula. Los aumentos de AMPc o de Ca^{++} intracelular también pueden activar proteínas quinasas que fosforilan las AQP presentes en las vesículas induciendo su migración hacia la membrana plasmática y su inserción en ella. Cuando el estímulo inicial disminuye o desaparece, las AQP vuelven a ser internalizadas al citoplasma por endocitosis. La expresión de las AQP está alterada en pacientes con enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa. Finalmente, además de este mecanismo, se ha propuesto que el cotransportador glucosa/ Na^+ , SGLT-1, también podría transportar moléculas de agua hacia el interior del enterocito.

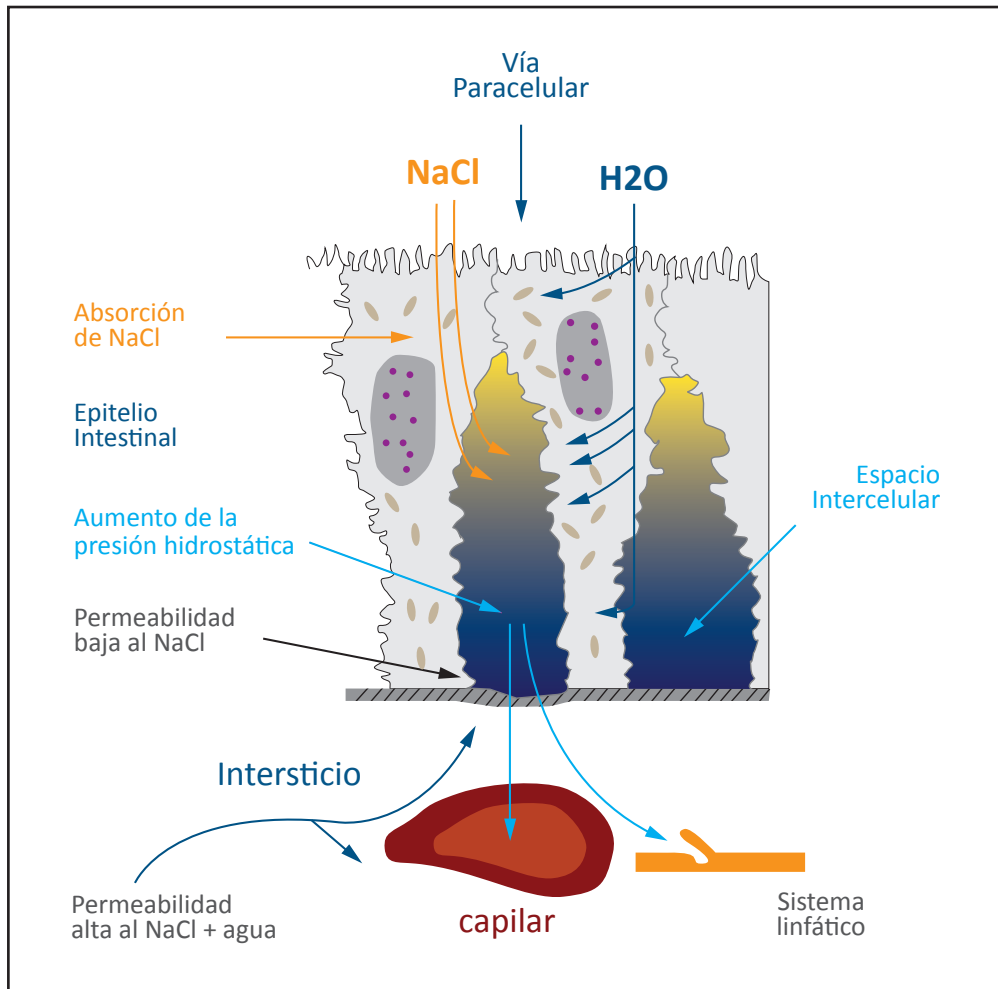


Figura 6: Transporte isotónico de agua a través del epitelio intestinal.

Regulación del transporte de electrolitos

La regulación del transporte de agua y electrolitos incluye numerosos factores luminales y sistémicos y pone en juego varios elementos celulares que pertenecen al aparato endocrino y a los sistemas nervioso e inmune así como a células endoteliales, musculares y del tejido conectivo (fibroblastos y miofibroblastos) presentes en el corion de la mucosa. Dichas células pueden liberar un gran número de

péptidos hormonales y neurotransmisores capaces de estimular o inhibir los fenómenos de secreción y absorción de agua y electrolitos a través del epitelio (Tabla 1). Cabe destacar además que en el caso de procesos inflamatorios, las células activadas del sistema inmune/inflamatorio pueden infiltrar la mucosa a partir de la circulación, aumentando aún más la diversidad y cantidad de mediadores (PAF, bradiquininas, radicales libres, citoquinas, eicosanoides) liberados en la proximidad del epitelio intestinal.

Moduladores neuroendocrinos e inmunes/inflamatorios del transporte hidroelectrolítico	Segundos mediadores involucrados	Acción directa sobre el enterocito (E) o indirecta vía el sistema nervioso (SN) o el sistema inmune (SI)
<u>Estimulación de la Secreción</u>		
Glucagón	AMPc	?
Histamina	AMPc	E, SN, SI
Secretina	AMPc	?
VIP	AMPc	E, SN, SI
Péptido natriurético auricular	GMPC	E, SN, SI
Guanilina	GMPC	E
Oxido nítrico	GMPC	SN, SI
Acetilcolina	Ca ⁺⁺	E, SN, SI
Bombesina	Ca ⁺⁺	E
Neurotensina	Ca ⁺⁺	SN
Serotonina	Ca ⁺⁺	SN, SI
Substancia P	Ca ⁺⁺	E, SN, SI
Calcitonina/CGRP	Ca ⁺⁺	SN
Colecistoquinina	Ca ⁺⁺	?
Endotelina	Ca ⁺⁺	?
Gastrina	?	?
GIP	?	?
Motilina	?	?
Vasopresina	?	?
Factor de activación plaquetaria (PAF)	AMPc	E, SN, SI
Prostaglandinas	AMPc, Ca ⁺⁺	E, SN, SI
Bradiquinina	Ca ⁺⁺	E, SN, SI
Radicales libres	Ca ⁺⁺	E, SI
Adenosina	?	E, SN, SI
Acido araquidónico	?	E, SN, SI
Citoquinas	?	E, SI
Leucotrienos	?	SI
<u>Estimulación de la Absorción</u>		
Aldosterona	?	E
Agentes α-adrenérgicos	Gi	E, SN
Angiotensina	?	SN
Dopamina	?	?
Encefalina	?	E
Glucocorticoides	?	E
Neuropéptido Y	Gi	E
Opiáceos	?	E, SN
Peptido YY	?	?
Prolactina	?	?
Somatostatina	Gi	E

Tabla 1: Mediadores involucrados en la regulación del transporte hidroelectrolítico por el epitelio intestinal en situaciones fisiológicas y fisiopatológicas. Se describen los segundos mensajeros involucrados a nivel intracelular en la activación/inhibición de los mecanismos de absorción/secreción y las poblaciones celulares involucradas en estos efectos.

Estos mediadores pueden actuar directamente sobre los enterocitos mediante la estimulación de receptores presentes en su membrana basolateral, o indirectamente estimulando a otras poblaciones celulares (miofibroblastos, mastocitos) que a su vez secretan mediadores que actúan sobre los enterocitos. Los segundos mediadores involucrados en la transducción de señales en el enterocito (AMPC, GMPC, Ca^{++}) difieren dependiendo de los mediadores, por lo cual es posible que puedan potenciarse entre sí.

Entre los factores intraluminales que afectan los fenómenos de transporte hidroelectrolítico, dos de los más importantes son la distensión mecánica de la pared duodenal y el aumento de la presión intraluminal generada por la presencia del quimo. Ambos factores estimulan mecanorreceptores presentes en la superficie de las células enteroendocrinas, las cuales liberan a nivel basolateral hormonas que pueden actuar en forma paracrina o endocrina sobre enterocitos vecinos o distantes, o activar redes de células nerviosas presentes en los plexos mesentérico y mientérico (reflejo corto). El resultado de este proceso es la modulación hormonal o nerviosa del transporte hidroelectrolítico intestinal y, en algunos casos, de la motricidad intestinal. Similares resultados pueden ser obtenidos a través de la estimulación de quimiorreceptores sensibles al pH, a la osmolaridad o a la naturaleza química de los nutrientes presentes en el lumen.

Por otra parte, el transporte intestinal de electrolitos está estrechamente relacionado con la presencia de acidosis o alcalosis metabólica o respiratoria, es decir, con el equilibrio ácido-básico del organismo. La absorción de Na^+ , por ejemplo, aumenta en presencia de acidosis mientras que disminuye en los sujetos con alcalosis y la PCO_2 está estrechamente relacionada con los fenómenos de secreción/absorción de bicarbonato y de cloro. Los cambios de la volemia también afectan los fenómenos de transporte de agua y electrolitos a través de la estimulación adrenérgica producida por el sistema nervioso entérico activado por baroreceptores, o del sistema

renina/angiotensina que aumenta la reabsorción a través de la estimulación del sistema simpático. Los receptores α -adrenérgicos presentes en la membrana basolateral de los enterocitos activan la absorción e inhiben la secreción de agua cuando son estimulados.

Diarrea

Existen dos causas principales que explican la aparición de diarrea: la presencia de sustancias osmóticamente activas en el lumen intestinal (lactosa en los sujetos hipolactásicos, sales de magnesio, sorbitol, lactulosa) que inducen una diarrea osmótica, y la presencia de factores exógenos (enterotoxinas, rotavirus) o endógenos (malabsorción de sales biliares, hipersecreción de hormonas como en el caso de VIPoma, gastrinoma, etc.) que estimulan la secreción de agua y producen una diarrea secretora. La alteración del transporte hidroelectrolítico puede afectar el intestino delgado, el colon o ambos segmentos simultáneamente. Sin embargo, el principal factor que determina la aparición de la diarrea es la capacidad de reabsorción de agua del colon que puede alcanzar los 5 L/ día. El intestino delgado puede estar secretando una cantidad anormal de agua sin que se produzca necesariamente diarrea siempre que el colon pueda reabsorber todo este líquido. Por lo tanto, la diarrea se produce cuando el volumen de agua que llega al colon excede su capacidad de reabsorción. Dicha capacidad puede estar significativamente reducida cuando la función colónica está alterada, como ocurre en los pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas del tubo digestivo.

Referencias

1. Fasano A, Shea-Donohue T. Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 416-22.
2. Field M. Intestinal ion transport and the pathophysiology of diarrhea. *J Clin Invest* 2003; 111: 931-943.
3. Kato A, Romero MF. Regulation of electroneutral NaCl absorption by the small intestine. *Annu Rev Physiol* 2011; 73: 261-81.
4. Kunzelmann K, Mall M. Electrolyte transport in the mammalian colon: mechanisms and implications for disease. *Physiol Rev* 2002; 82: 245-89.
5. Loo DD, Wright EM, Zeuthen T. Water pumps. *J Physiol* 2002; 542: 53-60.
6. Lucas ML. Enterocyte chloride and water secretion into the small intestine after enterotoxin challenge: unifying hypothesis or intellectual dead end? *J Physiol Biochem* 2008; 64: 69-88.
7. Martínez-Augustin O, Romero-Calvo I, Suárez MD, Zarzuelo A, de Medina FS. Molecular bases of impaired water and ion movements in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 114-27.
8. Morris AP, Estes MK. Microbes and microbial toxins: paradigms for microbial-mucosal interactions. VIII. Pathological consequences of rotavirus infection and its enterotoxin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G303-10.
9. Petri WA, Miller M, Binder HJ, Levine MM, Dillingham R, Guerrant RL. Enteric infections, diarrhea, and their impact on function and development. *J Clin Invest* 2008; 118: 1277-90.
10. Rao MC. Oral rehydration therapy: new explanations for an old remedy. *Annu Rev Physiol* 2004; 66: 385-417.
11. Verkman AS, Lukacs GL, Galiotta LJ. CFTR chloride channel drug discovery--inhibitors as anti-diarrheals and activators for therapy of cystic fibrosis. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 2235
12. Viswanathan VK, Hodges K, Hecht G. Enteric infection meets intestinal function: how bacterial pathogens cause diarrhoea. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7:110-9.
13. Wright EM, Loo DD. Coupling between Na⁺, sugar, and water transport across the intestine. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 915: 54-66.

Digestión y absorción de los hidratos de carbono

Roberto Quezada Calvillo, Maricela Díaz Sotomayor, Buford L. Nichols

Los hidratos de carbono constituyen la principal fuente de energía proporcionada por los alimentos y aportan aproximadamente el 50% de las calorías ingeridas en una dieta occidental promedio, aunque en ocasiones pueden constituir hasta el 100% del total del consumo calórico. Los hidratos de carbono están presentes en la dieta en una extensa variedad de estructuras químicas que incluyen monómeros y polímeros derivados principalmente de tres monosacáridos: glucosa, fructosa y galactosa (Figura 1). El almidón es el hidrato de carbono digerible más abundante en los alimentos; sin embargo, el consumo de carbohidratos más simples, tales como la sacarosa y otros compuestos naturales o sintéticos, se ha incrementado sustancialmente con la industrialización del proceso de elaboración de los alimentos. Por su parte, la lactosa es el azúcar característico de la leche de los mamíferos. En los alimentos de origen vegetal hay otros hidratos de carbono no digeribles, tales como la celulosa o la inulina, que son clasificados como fibra dietética. Aunque en la dieta de los humanos la fibra dietética no es una fuente de glucosa o de otros monosacáridos, los ácidos grasos de cadena corta que genera su fermentación en el intestino grueso pueden proporcionar cierta cantidad de energía al organismo.

Sin excepción, el valor energético y nutricional de los hidratos de carbono depende de la capacidad de tracto gastrointestinal para digerirlos liberando sus monómeros constituyentes, principalmente glucosa, galactosa y fructosa. Estos monosacáridos pueden ser absorbidos mediante transportadores específicos localizados en la membrana apical de las

células epiteliales que recubren el lumen del intestino delgado. Una vez absorbidos, los monosacáridos son transportados a la circulación sanguínea para su transporte al hígado y a otros tejidos del organismo. En el hígado, los monosacáridos diferentes de la glucosa son transformados principalmente en glucosa por mecanismos enzimáticos y son llevados a los tejidos periféricos para su procesamiento final.

En años recientes se ha puesto particular atención en la presencia de hidratos de carbono en las dietas de los seres humanos debido a la dualidad de su valor nutricional. Los hidratos de carbono constituyen una fuente importante de energía para los seres humanos; en el caso de los lactantes, satisfacen una alta proporción de sus elevados requerimientos energéticos durante esta etapa del crecimiento y desarrollo. Además, la glucosa es la principal fuente de energía del sistema nervioso central. En las fórmulas infantiles, cuando se desea aumentar el aporte de energía como hidratos de carbono, el suplemento usado más comúnmente es la maltodextrina producida por la hidrólisis parcial, química o enzimática, de almidones (1, 2). Por otro lado, los hidratos de carbono son fuentes de energía indispensable para los atletas de alto rendimiento, por lo que las maltodextrinas y la fructosa son componentes frecuentes de las bebidas energéticas o "reconstituyentes". El consumo de hidratos de carbono no digeribles o de fibra dietética, puede asociarse con cambios cualitativos de la microflora intestinal así como con modificaciones de la motilidad intestinal y de la composición química de las heces. Algunos de estos cambios pueden ser beneficiosos para la función gastrointestinal y

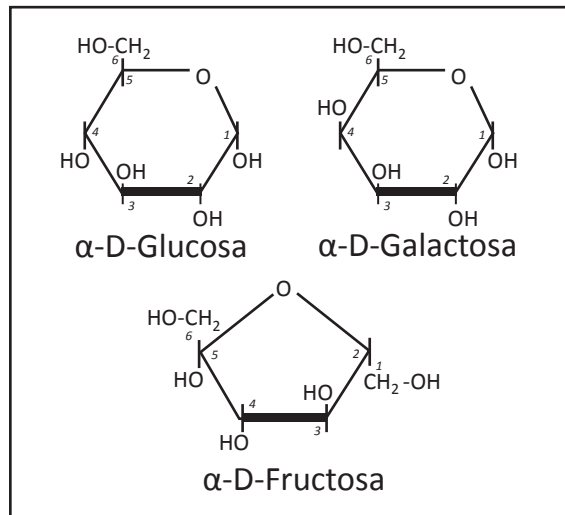


Figura 1. Representación de la estructura química de los monosacáridos, glucosa, galactosa y fructosa, de mayor importancia nutricional para humanos. La estructura cíclica hexagonal (piranósica) de los isómeros enantioméricos de las aldohexosas glucosa y galactosa, difieren en la orientación del oxhidrilo asociado al carbono número 4. La fructosa es una cetohehexosa con estructura cíclica pentagonal (furanósica) que difiere substancialmente de la glucosa y la galactosa.

constituyen una de las bases para el desarrollo de los alimentos “prebióticos” y “probióticos” (3, 4, 5). En contraste con sus efectos nutricionales benéficos, la ingestión de hidratos de carbono en grandes cantidades se ha asociado con la génesis de enfermedades crónico-degenerativas tales como la obesidad, la diabetes, la aterosclerosis, la cardiopatía coronaria y el síndrome metabólico (6).

Dependiendo de sus propiedades bioquímicas y fisicoquímicas y de su contenido de glucosa, los hidratos de carbono pueden ser clasificados desde distintos puntos de vista. Una de estas clasificaciones es como glucogénicos y no glucogénicos, dependiendo de la capacidad del intestino delgado de hidrolizarlos enzimáticamente para producir glucosa libre que desencadena una respuesta glicémica. De acuerdo con otra clasificación, estos hidratos de carbono glucogénicos son llamados digeribles mientras que los no glucogénicos son aquellos no digeribles,

que corresponden a parte de la fibra dietética que es fermentada (fibra soluble) o no fermentada (fibra insoluble) por la microbiota del colon. Parte de estos hidratos de carbono es excretada en las heces, contribuyendo a mantener su volumen y humedad y a disminuir su consistencia (5, 7).

En las últimas décadas se ha definido el índice glicémico (IG) como el incremento de la glicemia causado por la ingesta de cantidades estandarizadas de alimentos que contienen hidratos de carbono, en comparación con la glicemia inducida por la misma cantidad de glucosa pura. El IG varía dependiendo no sólo del tipo y cantidad de hidratos de carbono del alimento, sino también de la presencia de otros macronutrientes, de su procesamiento culinario y de las características fisiológicas del individuo. El índice insulínico es un parámetro relacionado que consiste en el incremento de las concentraciones de insulina en la sangre después del consumo de alimentos que contienen hidratos de carbono (8, 9).

Digestión de los hidratos de carbono

Los hidratos de carbono digeribles incluyen polímeros, oligómeros y dímeros de glucosa, galactosa o fructosa, los cuales son digeridos eficientemente durante su paso a lo largo del intestino delgado. Su digestión involucra la hidrólisis enzimática del enlace entre dos monosacáridos, formado por un oxígeno éster y llamado enlace glucosídico. Sólo los monosacáridos resultantes de este proceso de hidrólisis pueden ser transportados a través del epitelio intestinal hacia la circulación sanguínea. En el tracto gastrointestinal de los seres humanos, la digestión de los hidratos de carbono ocurre primordialmente en el lumen del duodeno y el yeyuno. El proceso involucra glucosidasas con diferentes especificidades por sustratos y que incluyen endoglucosidasas, como las amilasas salival y pancreática, y un conjunto de exoglucosidasas conocidas por el nombre genérico de disacaridasas, que están incorporadas en el espesor de la membrana plasmática del ribete estriado de los enterocitos.

Digestión de la lactosa

La lactosa (β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 4') α '-D-glucopiranosido) (Figura 2), es el hidrato de carbono más abundante en la leche de los mamíferos y generalmente es el primer hidrato de carbono que consumen los seres humanos después del nacimiento. Los lactantes amamantados consumen alrededor de 50 g de lactosa por día, pero la relevancia nutricional de este azúcar se limita principalmente a este período de la vida en el que proporciona buena parte de sus requerimientos energéticos (10). Después del destete, otros alimentos satisfacen de manera

proporcionante estos requerimientos energéticos. El consumo de productos lácteos no es indispensable para los adultos en cuanto a su aporte de lactosa, pero son componentes importantes de la dieta por su alto contenido de calcio y de proteína de alta calidad nutricional.

La digestión de la lactosa depende de la actividad enzimática de la subunidad lactasa de la enzima lactasa florizina hidrolasa (LPH). Esta subunidad es la principal β -galactosidasa presente en la mucosa del tracto gastrointestinal humano y libera glucosa y galactosa durante la hidrólisis del enlace glucosídico β -1,4 de este disacárido (11, 12). La deficiencia

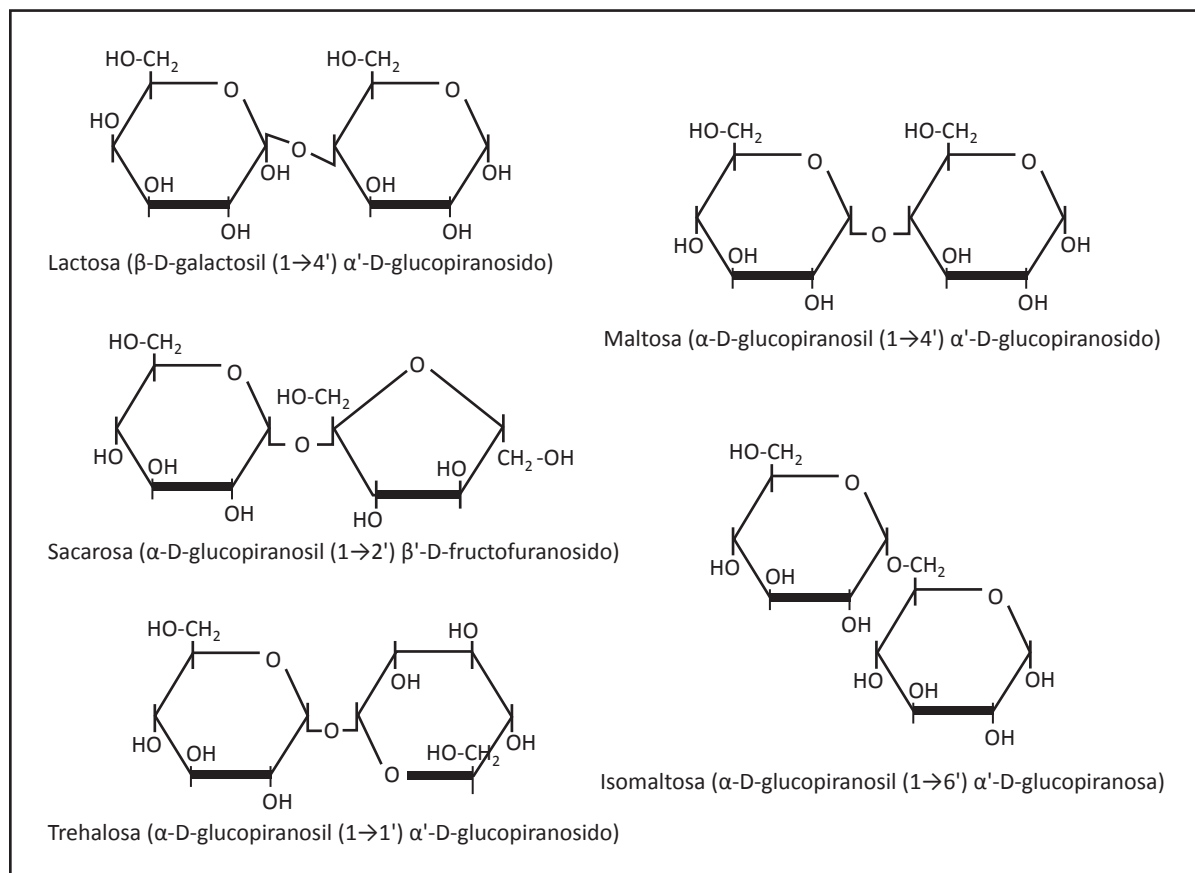


Figura 2. Principales disacáridos presentes en la dieta de humanos. Lactosa, sacarosa y trehalosa son disacáridos presentes de forma natural en alimentos. Maltosa e isomaltosa son intermediarios de la digestión química o enzimática de almidones.

de la expresión de esta enzima, limita la capacidad del intestino delgado para digerir lactosa en una alta proporción de la población. En la mayoría de la población humana, el período del destete coincide con el comienzo de la disminución paulatina de la actividad lactasa de la LPH. Esta condición, llamada “hipolactasia de adulto” es, por lo tanto, un proceso fisiológico en el desarrollo humano que se hace evidente durante la infancia tardía o la adolescencia. En sujetos de origen norte-europeo es frecuente observar que sus niveles de actividad de lactasa intestinal permanecen prácticamente sin cambio durante toda su vida. Este fenotipo, llamado “lactasa persistente”, es una característica distintiva de una población humana que adquirió la capacidad de mantener niveles altos de expresión de la enzima después del destete, probablemente como resultado de una adaptación al alto consumo de leche asociado con la domesticación y crianza intensiva de bovinos; este carácter se expandió rápidamente a la mayor parte de la población del noreste europeo y Escandinavia.

Digestión del almidón

Los almidones y sus productos derivados son los polisacáridos de mayor consumo por la población humana. El desarrollo de la agricultura determinó un cambio importante en el tipo y cantidad de carbohidratos disponibles para el consumo (13). Esta actividad puso al alcance de la población granos con alto contenido de hidratos de carbono, principalmente en forma de almidones, que satisficieron una parte importante de sus requerimientos de energía. Es ampliamente aceptado que el cultivo del trigo, maíz, arroz y cebada fue el cimiento sobre el cual se desarrollaron las principales culturas del mundo. Por lo tanto, los almidones derivados de cultivos de gramíneas fueron los hidratos de carbono más abundantes tanto durante la época preindustrial como en la actualidad.

Los almidones naturales son sintetizados por las plantas en forma semicristalina dentro de gránulos presentes en sus tejidos reproductivos, donde sir-

ven para almacenar energía para el desarrollo del germen. Dentro de los gránulos, el almidón está presente en dos formas moleculares principales: la amilosa, que está formada por largas cadenas lineales de varios cientos de residuos de glucosa, unidos por enlaces glucosídicos α -1,4 y con ocasionales ramificaciones unidas a la cadena principal mediante enlaces glucosídicos α -1,6. Esto genera una estructura primordialmente lineal no ramificada y poco soluble. Esta estructura tiende a adoptar una forma helicoidal, estabilizada por puentes de hidrógeno. La otra forma es la amilopectina, que consiste en cadenas lineales de glucosa relativamente cortas, unidas por enlaces glucosídicos α -1,4 y con un alto contenido de cadenas ramificadas unidas con enlaces α -1,6 que dan origen a una estructura muy ramificada y soluble (Figura 3). La estructura de la amilosa permite su agregación uniforme formando regiones cristalinas dentro de los gránulos de almidón, llamadas dominios A; por el contrario, la estructura ramificada de la amilopectina favorece su agregación en los gránulos en forma desordenada, que genera regiones no cristalinas llamadas dominios B. Pequeñas cantidades de lípidos y proteínas están asociadas con los almidones y contribuyen en forma limitada a sus propiedades fisicoquímicas y organolépticas. La proporción entre la amilosa y la amilopectina, la longitud promedio de las cadenas lineales α -1,4 y la frecuencia de ramificaciones α -1,6, son variables identificables en los almidones de las diferentes especies o variedades de plantas y afectan el grado de cristalización de los respectivos gránulos (14). La proporción amilosa/amilopectina afecta también la digestión de los almidones ya que la menor disponibilidad de extremos no reductores en las moléculas de amilosa, hace más lenta su degradación enzimática que la de la amilopectina, aún después de su digestión previa por las amilasas. Los gránulos altamente cristalinos y con alto contenido de amilosa requieren tratamientos más intensos para lograr su hidratación e hidrólisis enzimática. Por eso los almidones con alto contenido de amilopectina y prácticamente carentes de estructura

cristalina, como son los presentes en las harinas industrializadas, han sido clasificados como de digestión rápida (14, 15, 16). Otros almidones, que presentan alto contenido de amilosa y considerable estructura cristalina, como los almidones “retrogra-

dados” generados por procesos sucesivos de calentamiento, hidratación, gelatinización, enfriamiento, deshidratación y cristalización, pueden llegar a ser totalmente resistentes a la digestión (“almidones resistentes”). Modificaciones químicas tales como la fosforilación, pueden afectar significativamente la digestión de los almidones.

El maíz, el trigo, la papa, la mandioca y el arroz, son las principales fuentes de los almidones ofrecidos comercialmente; sin embargo, cientos de especies botánicas han servido como fuentes de almidones con diferentes propiedades fisicoquímicas, organolépticas o nutricionales empleados para la elaboración de alimentos.

La hidrólisis enzimática del almidón tiene lugar durante su tránsito por el tracto gastrointestinal y

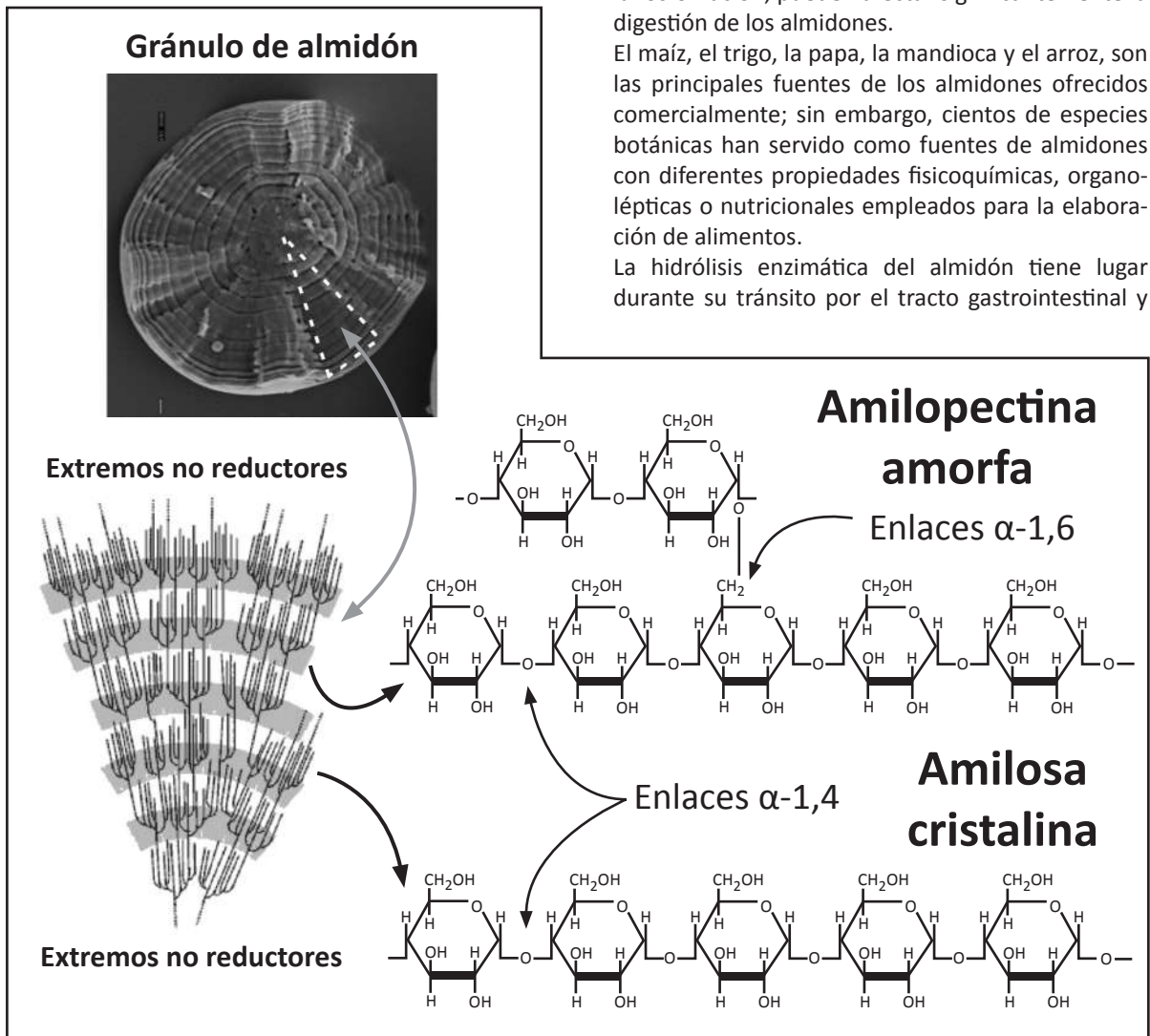


Figura 3. Micrografía electrónica de barrido del interior de un grano de almidón mostrando la estructura laminar formada por las regiones ricas en amilosa y amilopectina. Cada molécula de almidón puede contener varios cientos de miles de residuos de glucosa extendiéndose desde el centro del gránulo (extremo reductor) hasta su exterior (extremo no reductor). El acomodo ordenado de regiones lineales con predominio de enlaces α -1,4 ricas en amilosa permite la adquisición de estructuras cristalinas. La presencia de una densidad relativamente alta de enlaces α -1,6 en regiones ricas en amilopectinas no permite su arreglo cristalino, generando estructuras amorfas.

requiere la participación de diferentes actividades α -glucosidasas (17). Dada la complejidad estructural del almidón y las diversas actividades enzimáticas requeridas para su digestión, no ha sido posible determinar con exactitud los mecanismos involucrados en este proceso. El modelo más aceptado que describe la digestión de los almidones no toma en cuenta su diversidad de composición o su estructura, ni la de los productos intermedios de degradación. Tampoco toma en cuenta las diferencias en las propiedades catalíticas de cada enzima en relación con sus diferentes sustratos. En este modelo se considera que existen dos endoglucosidasas α -1,4 que son las amilasas salival y pancreática. Ambas amilasas realizan la hidrólisis en segmentos lineales no ramificados formados por cinco o más unidades de glucosa presentes en las moléculas de amilosa o amilopectina, y liberan una mezcla de maltosa, maltotriosa, oligómeros lineales de hasta 10 residuos de glucosa y oligómeros ramificados de seis a siete unidades de glucosa llamados dextrinas α -límite o dextrinas límite, más una pequeña cantidad de glucosa libre (18). Las regiones con ramificaciones α -1,6 son resistentes a estas actividades enzimáticas. Para liberar la glucosa en forma monomérica, absorbible, es necesaria la participación de las actividades enzimáticas de exoglucosidasas α -1,4 presentes en el ribete estriado de los enterocitos: la sacarasa-isomaltasa (SI) y la maltasa-glucoamilasa (MGAM). Cada enzima es un complejo formado por dos subunidades que actúan en los extremos no reductores de los segmentos lineales de los oligómeros generados por las amilasas, y liberan eficientemente monómeros absorbibles de glucosa (Figura 4) (17, 18). Además, la subunidad isomaltasa de la SI presenta actividad glucosídica α -1,6 que degrada el enlace α -1,6 de la isomaltosa o de los sitios de ramificación presentes en la amilopectina (Figura 4). De este proceso se deriva su nombre aunque en ocasiones también sea referida como la “enzima desramificante del almidón”. Estudios más recientes han mostrado que el modelo anterior es una simplificación. Por ejemplo, la acción de la amilasa salival se inicia en la boca con la masticación pero cesa abruptamente después de la

deglución debido al medio ácido representado por los jugos gástricos. Aunque la amilasa salival es lábil en medios ácidos, su asociación con los almidones de la dieta parece tener un efecto protector frente a su degradación gástrica (19), lo que podría permitir que una fracción de la enzima llegue al duodeno, donde complementaria la acción de la amilasa pancreática. En los recién nacidos, y particularmente en los prematuros, la amilasa salival que llega al intestino puede desempeñar un papel importante en la digestión del almidón porque los niveles de secreción de la enzima pancreática son muy bajos en esta etapa del desarrollo. Por otro lado, la baja concentración relativa de amilasa pancreática en el lumen duodenal del recién nacido ha llevado a algunos pediatras y nutricionistas a recomendar la abstención de alimentos que contengan almidones hasta la edad de al menos 6 meses, pese a que los síntomas clínicos resultantes de la alimentación con almidones a edades menores son poco frecuentes (20). La amilasa pancreática es secretada en grandes cantidades hacia la luz del intestino delgado y permite que la mayor parte del almidón sea hidrolizado hasta dextrinas límite cuando el bolo alimenticio alcanza la unión duodeno-yeyunal. Esta cantidad de amilasa pancreática también es suficiente para que la digestión del almidón ocurra prácticamente sin problemas en los pacientes con insuficiencia pancreática exocrina, que mantienen sólo un 10% de su capacidad secretora.

Otros estudios acerca del proceso de digestión han mostrado que la acción de la amilasa pancreática sobre diferentes tipos de almidones produce dextrinas límite con mezclas de oligómeros diferentes y características para cada almidón (21, 22). Además, las capacidades de generación de glucosa libre por la MGAM y la SI no es homogénea para todos los oligómeros de glucosa, ya que existen diferencias de hasta 100 veces entre las velocidades de hidrólisis para cada oligómero (21, 22). Estas observaciones implican que la eficiencia de la liberación de glucosa es diferente para cada tipo de almidón ya que depende de la concentración relativa de cada uno de los oligómeros en la respectiva dextrina límite.

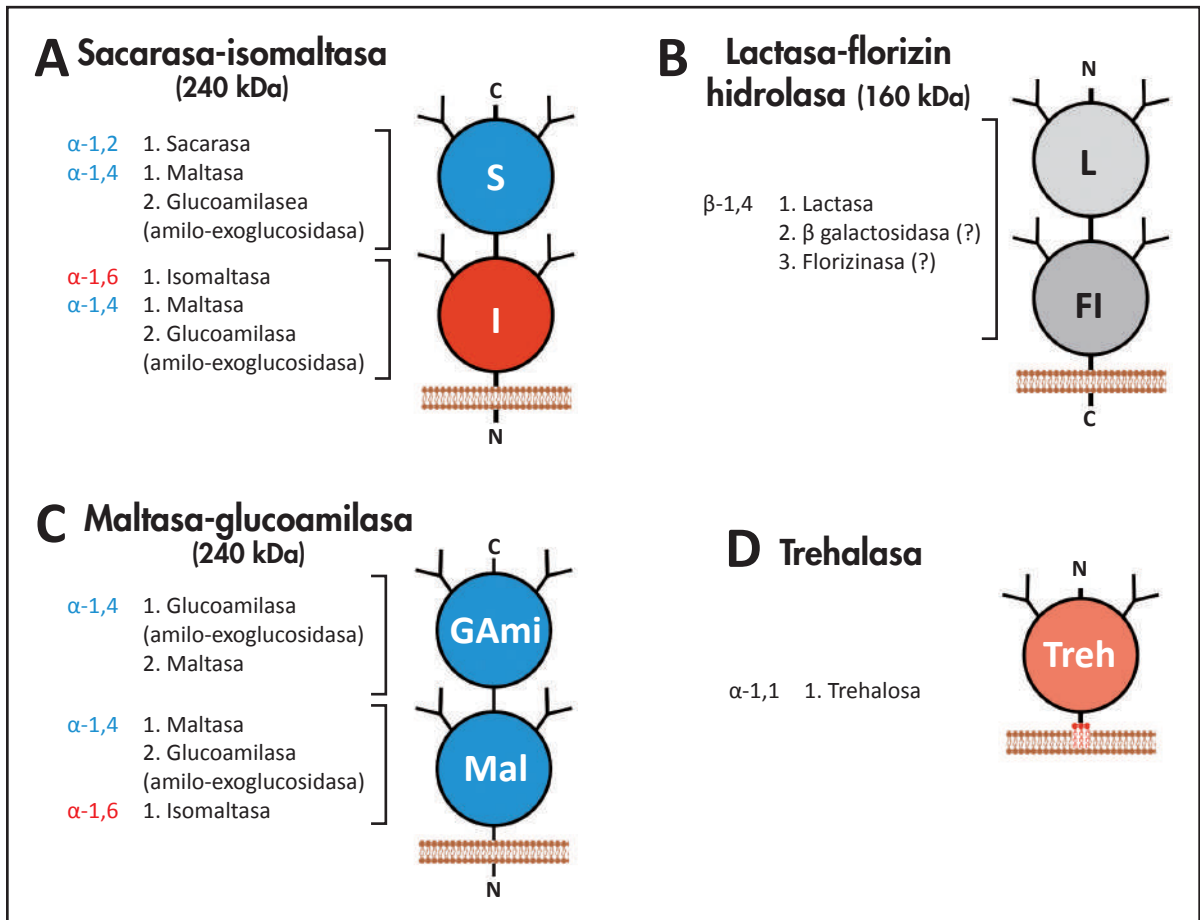


Figura 4. Esquema descriptivo de la organización molecular de las disacaridasas intestinales indicando las actividades hidrolíticas observadas en cada una de las subunidades respectivas.

Digestión de la sacarosa

La sacarosa, conocida comúnmente como azúcar de caña o de remolacha, es el disacárido consumido en mayor abundancia como edulcorante natural. La mayor parte de la sacarosa para el consumo humano es obtenida por refinación a partir de la caña de azúcar o de la remolacha azucarera. La sacarosa también se encuentra en altas concentraciones en frutas como las naranjas y las manzanas maduras, donde sirve como reserva de energía para el rápido crecimiento de las plántulas. Aunque el azúcar de

caña parece haber sido conocido en Europa desde antes de la era cristiana como uno de los productos que se importaban desde el Oriente, la sacarosa cristalizada no constituyó una fuente importante de hidratos de carbono edulcorantes hasta el descubrimiento y la colonización europea del continente americano. El cultivo de la caña de azúcar fue una de las primeras actividades comerciales establecidas en América por los colonizadores europeos y continúa siendo uno de los productos agrícolas más importantes para varios países de América y otras regiones del mundo (23).

La digestión de la sacarosa (α -D-glucopiranosil(1 \rightarrow 2) β -D-fructofuranósido) (Figura 2) requiere la hidrólisis del enlace α -1,2 que involucra los dos carbonos anoméricos de la glucosa y la fructosa. En los mamíferos la hidrólisis es llevada a cabo por la subunidad sacarasa de la sacarasa-isomaltasa (SI). Los monosacáridos resultantes, glucosa y fructosa, son entonces absorbidos por las células epiteliales y transportados a la circulación sanguínea.

Digestión de la trehalosa

La trehalosa (α -D-glucopyranosil-(1 \rightarrow 1') α' -D-glucopiranosido) (Figura 2) es un disacárido de menor importancia para la dieta humana contemporánea, ya que sólo se encuentra en cantidades apreciables en algunos hongos comestibles, en las levaduras y en la hemolinfa de la mayoría de los insectos. En los insectos la trehalosa parece servir como una forma de movilización de la energía y contribuye a la preservación de su viabilidad después de la desecación o de su exposición a temperaturas congelantes (24).

Glucosidasas del tracto gastrointestinal de humanos

Amilasas salival y pancreática

En los seres humanos, las amilasas salival y pancreática son codificadas por los genes *AMY1* y *AMY2*, respectivamente, localizados en el cromosoma 1. En el típico genoma haploide humano existen dos copias del gen *AMY2* (*AMY2 A* y *B*) (25, 26). Sin embargo, en la población es frecuente la presencia de múltiples copias de *AMY1* y 2. De hecho, se ha observado una asociación entre las cantidades de almidón ingeridas regularmente en la alimentación de algunos grupos étnicos y la presencia de múltiples copias de estos genes, lo que sugiere que la multiplicación de dichos genes de la amilasa puede ser un rasgo genético de adaptación a dietas con altos contenidos de almidones (26).

La secreción de la amilasa es generalmente muy baja

durante el desarrollo postnatal temprano, probablemente como un reflejo de la inmadurez pancreática. Después del nacimiento, la producción de las amilasas ocurre como parte del proceso de adaptación al consumo de hidratos de carbono; este estímulo se mantiene a lo largo de la vida como el principal inductor de la síntesis, procesamiento y secreción de la amilasa pancreática. La señal primaria para la producción y secreción de las amilasas son hormonas o neuro-mediadores como la colecistoquinina y la acetilcolina, los cuales inducen la secreción de los gránulos de zimógenos mediante mecanismos que involucran aumentos localizados de la concentración intracelular de calcio iónico (27, 28). Aunque los niveles de expresión del ARN mensajero que codifica la amilasa pancreática pueden sufrir cambios, la síntesis de esta proteína enzimática parece ser el paso limitante que controla la producción de la enzima activa.

Ambas amilasas, salival y pancreática, son sintetizadas originalmente en las células acinares como proteínas formadas por 512 aminoácidos, con un peso molecular de aproximadamente 78 kDa; tienen más de 95% de homología en sus secuencias y son clasificadas como parte de la familia 13 de glucohidrolasas. Después de la hidrólisis del péptido secretor de 15 aminoácidos de longitud, la forma madura de la proteína es transportada y almacenada en gránulos. La actividad enzimática de las amilasas requiere la presencia de iones Ca^{++} y Cl^- para lograr sus niveles máximos (29, 30, 31, 32). La amilasa pancreática humana obtenida en forma recombinante y cristalina tiene un sitio activo estructurado por regiones en forma de láminas plegadas beta dispuestas anti-paralelamente y formando una estructura anular. Estas láminas están a su vez rodeadas por regiones helicoidales alfa, las que sirven de sostén a la estructura anular de hojas beta, generando en conjunto un tipo de estructura conocida como barril α - β o barril TIM (en inglés Triose IsoMerase) dada su similitud con el sitio activo de la enzima fosfotriosa isomerasa. Los aminoácidos involucrados directamente en la actividad catalítica no han podido ser identificados con precisión; sin embargo, con el uso de acarbosa,

un análogo de la maltotetraosa que es un potente inhibidor de las α -glucosidasas, se ha obtenido evidencia que sugiere que los residuos Asp212, Glu248 y Asp315 están involucrados. Estos residuos forman parte de las láminas beta localizadas en la estructura anular y sus cadenas laterales se orientan hacia el interior del espacio cilíndrico formado por la estructura de la molécula (29, 30, 31, 32). Utilizando oligómeros de 2 a 7 residuos de glucosa (maltosa a maltoheptosa; G2 a G7), se ha observado que la actividad catalítica de la amilasa pancreática tiene un orden de magnitud $G5 > G4 > G6 > G7 > G3 > G2$. Estos datos, en conjunto con los análisis de los productos de reacción, sugieren que el sitio de unión al sustrato contiene cinco subsitios de unión a residuos correspondientes de glucosa e hidrolizan primordialmente el enlace localizado entre los subsitios 3 y 4. Esto parece explicar la óptima actividad observada sobre G5 y G4, así como la menor actividad sobre G3 y G2. Además, presenta una muy pobre actividad sobre los oligómeros que contienen ramificaciones α -1,6. Desafortunadamente existen muy pocos estudios que analicen las propiedades catalíticas de las amilasas humanas sobre los polímeros de magnitud mayor que G7. La amilasa pancreática es una metaloenzima con un sitio de unión para iones Ca^{++} , el cual es necesario para su actividad. Además, sus propiedades catalíticas son modificadas por la unión de iones Cl^- (29).

Sacarasa-Isomaltasa

La sacarasa-isomaltasa (SI) es una enzima localizada en la membrana apical de los enterocitos y está formada por dos subunidades que participan en las respectivas actividades isomaltasa y sacarasa (Figura 4). Además de las actividades glucosídicas α -1,6 y α -1,2 que actúan en la hidrólisis de la isomaltosa y sacarosa, respectivamente, ambas subunidades muestran también sustancial actividad glucohidrolítica sobre los enlaces α -1,4 presentes en los oligómeros lineales de glucosa y fueron las primeras descritas. Las dos subunidades se encuentran codificadas en el cromosoma 3 de los seres humanos

como un solo polipéptido formado por 1.827 aminoácidos cuyo peso molecular es de casi 210 kDa (33). La SI es sintetizada en el retículo endoplásmico (RE) de los enterocitos y posteriormente es N y O glicosilada en el mismo RE y en el aparato de Golgi. La forma madura de la enzima es transportada a la membrana plasmática apical en el ribete estriado donde las enzimas pancreáticas la hidrolizan generando las subunidades independientes I y S (33, 34, 35). Sin embargo, la subunidad S, correspondiente al extremo C terminal, puede permanecer unida en forma no covalente a la subunidad I, la que está anclada a la membrana plasmática por un dominio transmembranal hidrofóbico. Cada subunidad está formada por un dominio estructural perteneciente a la familia 31 de las glucohidrolasas (GlyHyd31) que contiene la secuencia característica GXWIDMNE. Además, cada subunidad contiene un dominio en "hoja de trébol" o "Trefoil" cuya función es desconocida. Existe una alta homología entre las secuencias de aminoácidos de las subunidades isomaltasa (N-terminal) y sacarasa (C-terminal), lo que sugiere que la SI ha evolucionado a partir de una proteína ancestral que contenía una sola subunidad, hasta llegar a una proteína con dos subunidades generadas por una duplicación genómica seguida de su posterior especialización.

La expresión de la SI está asociada directamente con el proceso de diferenciación del enterocito durante su migración a lo largo del eje cripta-velloso y responde a los mismos factores de transcripción (Cdx-2, HNF-1a, y factores GATA) que el promotor de la enzima lactasa-florizina hidrolasa (36, 37, 38). La región promotora del gen de la SI posee elementos reguladores, es decir, secuencias de nucleótidos blanco llamadas "huellas de la SI" (SI footprints), SIF1, SIF2 y SIF3 donde se unen los factores de transcripción Cdx-1 y Cdx-2 (caudal related proteins), HNF-1a, GATA-4 y GATA-6 para dirigir la transcripción del gen de manera específica para el tipo celular (36, 37, 38).

El transporte de las moléculas de SI hacia la membrana apical requiere su correcto procesamiento intracelular y, aparentemente, ser reconocida por los

sistemas específicos de transporte. Se han descrito diversas mutaciones que afectan a las señales necesarias para el procesamiento y transporte, las cuales parecen constituir los principales factores causantes de las deficiencias congénitas de SI en los seres humanos (39, 40, 41).

Maltasa-glucoamilasa

La enzima maltasa-glucoamilasa (MGAM) fue descrita originalmente como una molécula que incluía dos actividades maltasa que mostraban mayor resistencia a la inactivación térmica que las dos actividades glucoamidasas de la SI. La proteína de la MGAM, de al menos 1857 aminoácidos de longitud y alrededor de 280 a 330 kDa, contiene dos sitios activos distinguibles por sus características catalíticas y de sensibilidad a inhibidores de α -glucosidasas (Figura 4). La MGAM es glicosilada en el RE y el aparato de Golgi y posteriormente es transportada a la membrana apical de las células epiteliales. A diferencia de la SI y las amilasas, no se ha descrito que la MGAM sufra algún procesamiento proteolítico para alcanzar su estado final de maduración. En 1998 Nichols y col. (42) obtuvieron un cDNA que codificaba la MGAM humana y a partir de él se derivó la secuencia de aminoácidos y la estructura probable de la molécula. Dicha estructura resultó ser similar a la de la SI ya que consistía en una proteína integral de membrana con dos subunidades, cada una con un dominio GlyHyd31 y un dominio TFF. Poco tiempo después se identificó al locus que codificaba a la enzima en el cromosoma 7 (43).

Las capacidades enzimáticas de MGAM son similares en diferentes especies aunque existen variaciones en las proporciones entre la SI y la MGAM del epitelio intestinal. Usando anticuerpos monoclonales específicos se demostró que en los seres humanos la SI es 50 veces más abundante que MGAM (22). En general la MGAM muestra una capacidad enzimática al menos un orden de magnitud mayor (menor K_m) sobre todos sus sustratos en comparación con la SI (22, 21). Sin embargo, dado el predominio molecular de la SI, la MGAM contribuye sólo

alrededor del 30% de la actividad maltasa total. Una observación importante es que la maltotriosa y la maltotetraosa, así como las maltodextrinas y las dextrinas límite a concentraciones mayores de 4 mmol/L, tienen un intenso efecto inhibitorio de la MGAM sin afectar la actividad de la SI (22, 21). Por esta razón se ha propuesto que la SI es una enzima que permite la liberación de glucosa en forma lenta pero constante, a partir de las dietas con alto contenido de almidones mientras que la MGAM permite la rápida y eficiente liberación de glucosa a partir de dietas con muy bajo contenido de almidones, asegurando de esta manera el aprovechamiento efectivo incluso de pequeñas cantidades de carbohidratos. Durante el consumo de dietas ricas en almidones, la MGAM disminuye significativamente su actividad, lo cual representa un mecanismo de protección frente a los efectos del aumento excesivamente rápido de la glicemia.

Los estudios sobre la regulación de la expresión de MGAM se han visto limitados porque sus actividades y sustratos son compartidos con la SI. Algunas investigaciones sugieren que la expresión de MGAM y su actividad son paralelas a las de la SI (44). Además, el ARN mensajero de la MGAM es expresado en diversos tejidos, aunque no se ha aclarado su función en tejidos diferentes del intestino (45, 46). La expresión de MGAM es aún más compleja si se toma en cuenta la evidente amplificación genómica de la secuencia que codifica la subunidad C terminal de la proteína (47). En el genoma humano se encuentran al menos cuatro secuencias repetidas en tándem que codifican a la subunidad C terminal y existe evidencia que indica que existe un procesamiento por "splicing" alternativo del ARN transcrito originalmente a partir de estas secuencias. Aunque se han descrito polimorfismos de un sólo nucleótido que involucran cambios en la secuencia de aminoácidos de la proteína resultante, no se han observado asociaciones entre estos cambios y modificaciones o deficiencias de la actividad de la MGAM.

En los seres humanos, las subunidades N y C terminales de la MGAM presentan importantes homología en sus secuencias de aminoácidos al igual

que en la SI, pero también diferencias en sus capacidades catalíticas. Comparada con la subunidad C terminal, la subunidad N tiene menor capacidad catalítica (mayor K_m) para oligómeros de glucosa y maltodextrinas, menor susceptibilidad a la inhibición por sustrato con maltotriosa y maltotetraosa, y menor susceptibilidad a la inhibición competitiva por acarbosa (mayor K_i) (21, 48). Esto ha permitido establecer que la subunidad C terminal provee la mayor parte de la actividad de glucoamilasa, mientras que la subunidad N terminal contribuye con la mayor parte de la actividad de maltasa (Figura 4). Recientemente se ha logrado resolver la estructura cristalina de la subunidad N terminal de la MGAM humana recombinante (48), confirmando que varios residuos de aminoácidos altamente conservados, como el ácido aspártico de la secuencia característica GXWIDMNE, se encuentran orientados hacia el interior del anillo formado por las láminas beta del sitio activo y en contacto con los sustratos. Además, secuencias de aminoácidos que presentan más variaciones entre las proteínas eucariontas de la familia GlyHyd31, forman parte de las hélices alfa o de segmentos de conexión con estructuras al azar ("coiled coil") que brindan soporte a las estructuras formadas por las láminas beta. Por lo tanto, las regiones constantes podrían constituir parte importante del mecanismo catalítico mientras que las regiones helicoidales o dispuestas al azar podrían determinar la afinidad o especificidad por sustrato, modificando la disposición tridimensional del sitio activo y los sitios de reconocimiento o unión al sustrato.

Lactasa-florizina hidrolasa

El gen que codifica a la lactasa-florizina hidrolasa (LPH) en los seres humanos está localizado en el cromosoma 2 (49). La LPH es sintetizada originalmente como una proteína de 220 kDa que sigue una vía compleja de procesamiento intracelular que involucra N y O glicosilación, así como proteólisis para generar la enzima madura, con un tamaño molecular de aproximadamente 160 kDa. La secuencia nucleotídica del gen de la LPH humana indica la existencia

de dominios proteicos dispuestos simétricamente (49). Dos de ellos son eliminados durante el proceso de maduración de la enzima generando un producto final que contiene dos subunidades, cada una con un sitio activo (Figura 4) (12). En contraste con la SI y la MGAM, la forma madura de la LPH es insertada en la membrana de las microvellosidades mediante su extremo C-terminal (50). El dominio N-terminal, que es eliminado durante el procesamiento proteolítico, parece tener funciones de chaperona y es necesario para el transporte intracelular de la proteína madura (51, 52). La chaperona de las inmunoglobulinas BiP también participa en este proceso así como la O-glicosilación de la proteína. Los mecanismos precisos que regulan la síntesis y el procesamiento de la LPH no han sido esclarecidos completamente pero se sabe que el estado nutricional y algunas hormonas, tales como la hormona tiroidea, la insulina y factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs, insulin-like growth factors) modifican los patrones de expresión de la proteína activa (53, 54, 55).

El ARN mensajero de la LPH está expresado exclusivamente en los enterocitos. La actividad LPH puede ser detectada en el intestino delgado durante los dos primeros meses de la gestación (56, 57) y logra su máxima actividad durante la etapa postnatal temprana. En la mayor parte de los seres humanos la actividad LPH permanece elevada hasta el destete. Posteriormente, la actividad LPH está programada genéticamente para disminuir lenta pero sostenidamente, llegando en los adultos jóvenes a valores inferiores al 10% de la actividad inicial (11, 58). Dicha actividad no es lo suficientemente elevada como para permitir la digestión eficiente de la lactosa; esto hace que el azúcar no digerido llegue al colon donde es fermentado por la microflora bacteriana (57, 11). Sin embargo, una fracción de la población humana mantiene niveles altos de actividad de LPH en la edad adulta.

Se conocen sólo algunos aspectos de la expresión de la LPH. La enzima es expresada en células epiteliales embrionarias del intestino delgado cultivadas *in vitro* y en ausencia de estímulos hormonales (56), así como en tejidos xenotransplantados en órganos

no intestinales (59). Esto sugiere que la síntesis de la LPH es fundamentalmente un evento programado del proceso de diferenciación de las células epiteliales del intestino delgado. Sin embargo, el control hormonal de la expresión de la LPH parece intervenir intensamente durante la etapa perinatal, promoviendo la adquisición de los máximos niveles de actividad observados normalmente en esta edad. La insulina y el cortisol inducen la expresión de la LPH en los enterocitos perinatales, probablemente a través de la inducción de su diferenciación (55). Asimismo, el factor de crecimiento epidérmico (EGF, epidermal growth factor) puede amplificar la expresión de la LPH, potenciando los efectos de la insulina y los esteroides.

Durante la diferenciación, la expresión de la LPH es regulada en forma diferencial a lo largo del eje cefalo-caudal del intestino así como del eje cripta-vello-sidad. Los segmentos yeyunal distal e ileal proximal contienen las concentraciones más altas de ARN mensajero de LPH. Se han encontrado secuencias genómicas con funciones reguladoras de tipo cis en regiones anteriores a la secuencia "TATA-box" del promotor del gen de la LPH (60, 61). El promotor del gen de la LPH porcina (posiciones -17 a -994) es capaz de dirigir la expresión de LPH con la misma especificidad celular que la observada para células del intestino delgado, incluyendo la disminución de la expresión durante la etapa del destete (61).

Se han descrito diversos factores reguladores de la transcripción del gen de la LPH, entre los que se incluyen el factor de transcripción nuclear NF-LPH1 (62, 37), factores GATA, el factor nuclear de hepatocitos HNF-1a, la proteína Cdx-2 ("Caudal Related Homeodomain") y HOXC11 (63).

Trehalasa

La trehalasa es una disacaridasa, también localizada en el ribete estriado de los enterocitos, que es responsable de la hidrólisis del disacárido trehalosa. A primera vista, la presencia de esta enzima en el tracto gastrointestinal de los seres humanos parece extraña en vista del bajo consumo actual de alimentos

que la contienen en altas cantidades; de hecho, la deficiencia de trehalasa se detecta con mucha menor frecuencia que la de las otras disacaridasas. Esta enzima pudo haber tenido una función muy importante para las poblaciones humanas prehistóricas, para quienes algunas especies de insectos y hongos comestibles constituían componentes importantes de sus dietas. Debido a que la trehalasa tiene escasa relevancia fisiológica, sus propiedades estructurales y catalíticas han sido poco estudiadas. La trehalasa ejerce actividad hidrolítica sobre los enlaces α -1,1 presentes en la trehalosa (64). En los seres humanos el gen de la trehalasa está localizado en el cromosoma 11 (65) y su proteína contiene 583 aminoácidos con un peso molecular aproximado de 66 kDa (65, 66). Es procesada intracelularmente por proteólisis y glicosilación (66), resultando una molécula de 63 kDa. En contraste con la MGAM, la SI y la LPH que se insertan en la membrana apical mediante un dominio transmembranal, la trehalasa se inserta mediante un grupo fosfatidil-inositol (Figura 4) (50, 66).

Se ha detectado actividad trehalasa en diversos tejidos humanos, incluyendo el plasma sanguíneo y el riñón, pero no se ha determinado qué relación genética, estructural o funcional guarda con la trehalasa intestinal. La ontogenia de la trehalasa intestinal es variable en las diferentes especies de mamíferos. En el intestino fetal de los seres humanos y los conejos se han detectado niveles bajos de actividad de trehalasa (67) mientras que en ratones y ratas dicha actividad y el ARN mensajero de la enzima correspondiente han sido detectados hasta después del periodo postnatal. Debido a que en los seres humanos la actividad de trehalasa derivada del intestino y el riñón puede ser detectada en el líquido amniótico, se ha propuesto que la medición de esta actividad puede servir como herramienta diagnóstica para detectar problemas del desarrollo (68). En el intestino los niveles máximos normales de trehalasa son adquiridos tempranamente, poco después del nacimiento (69). Existen pocos estudios acerca de la regulación hormonal de la trehalasa intestinal. En ellos se ha demostrado que el desarrollo de su actividad es paralelo con el de la SI y por lo tanto, también parece ser

parte de un programa preestablecido de desarrollo intestinal. En los seres humanos y en otros mamíferos la actividad de esta enzima se incrementa por señales que estimulan el crecimiento y la diferenciación del epitelio intestinal (69).

Absorción de las hexosas: mecanismos y regulación

En la membrana apical de los enterocitos existen transportadores específicos para los productos de la digestión de los hidratos de carbono: glucosa, galactosa y fructosa. Estos transportadores funcionan de forma concertada permitiendo el paso de los monosacáridos desde el lumen intestinal al citoplasma de las células epiteliales y de allí hacia el espacio extracelular a través de la membrana basolateral y a los capilares de la lámina propia.

El transporte vectorial de glucosa y galactosa hacia el citoplasma de los enterocitos es realizado mediante el cotransportador de sodio-glucosa 1 (Sodium-glucose cotransporter 1, SGLT1), mientras que la fructosa lo es por el transportador de glucosa-fructosa 5 (GLUT5). El paso de la glucosa, la galactosa y la fructosa hacia el espacio extracelular basolateral es llevado a cabo por el transportador de glucosa 2 (GLUT2).

Aunque de forma natural también se encuentran en los alimentos cantidades considerables de pentosas (ribosa, desoxirribosa), generalmente como parte de ácidos nucleicos, existe poca información acerca de su absorción. La xilosa parece ser transportada mediante un mecanismo pasivo y su permeabilidad aumenta cuando el epitelio intestinal está dañado. Por ello, el transporte de xilosa y su excreción urinaria han sido usados como un parámetro de la integridad del epitelio intestinal. El transporte de ribosa libre parece ser muy limitado; sin embargo, existen algunos transportadores específicos para nucleótidos y nucleósidos que constituyen un mecanismo de salvamento y recuperación de estos compuestos. La relevancia nutricional de estos mecanismos de recuperación es desconocida.

Transportadores de hexosas

Tanto la glucosa como la galactosa, isómeros que difieren solamente en la posición del grupo hidroxilo asociado con el carbono 4, utilizan el cotransportador de sodio-glucosa 1 (SGLT1). SGLT1 es una proteína formada por 664 amino-ácidos insertada en la membrana apical mediante 14 dominios transmembranales (proteína multipaso integral de membrana); ambos terminales, N y C se encuentran expuestos al lumen intestinal (70, 71). SGLT1 es un cotransportador con gran afinidad pero baja capacidad para el transporte de la glucosa o la galactosa, que permite su entrada al citoplasma junto con dos iones Na^+ contra su gradiente de concentración. Este transportador activo tiene una K_t (concentración de saturación media; constante cinética de transporte análoga a la K_m para la actividad enzimática) de 0,5 mmol/L o aproximadamente 80 mg/L para la glucosa y de 5 mmol/L para los iones Na^+ , que corresponden a concentraciones de aproximadamente un décimo y un vigésimo, respectivamente, de las encontradas en el plasma sanguíneo y el líquido extracelular (Figura 5).

Una vez que la glucosa o la galactosa y los correspondientes iones Na^+ penetran al citoplasma de los enterocitos, siguen diferentes vías. El Na^+ sale del enterocito por su membrana basolateral mediante la $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPasa (bomba de sodio), lo que mantiene el gradiente de concentración de Na^+ entre el lumen intestinal y el citoplasma de los enterocitos. Este es el origen de la fuerza electromotriz que permite el cotransporte activo de hexosas hacia el citoplasma. Por otro lado, las concentraciones de glucosa y galactosa intracelulares logran niveles lo suficientemente altos como para usar el transportador facilitado GLUT2 de la membrana basolateral, el que muestra baja afinidad pero alta capacidad de transporte para las hexosas. La concentración de saturación media del transportador GLUT2 es comparable a las concentraciones plasmáticas postprandiales de glucosa ($K_t \sim 11$ mmol/L, o 1600 mg/L).

La absorción de glucosa por SGLT1, sin embargo, no da cuenta de la totalidad de la glucosa absorbida por

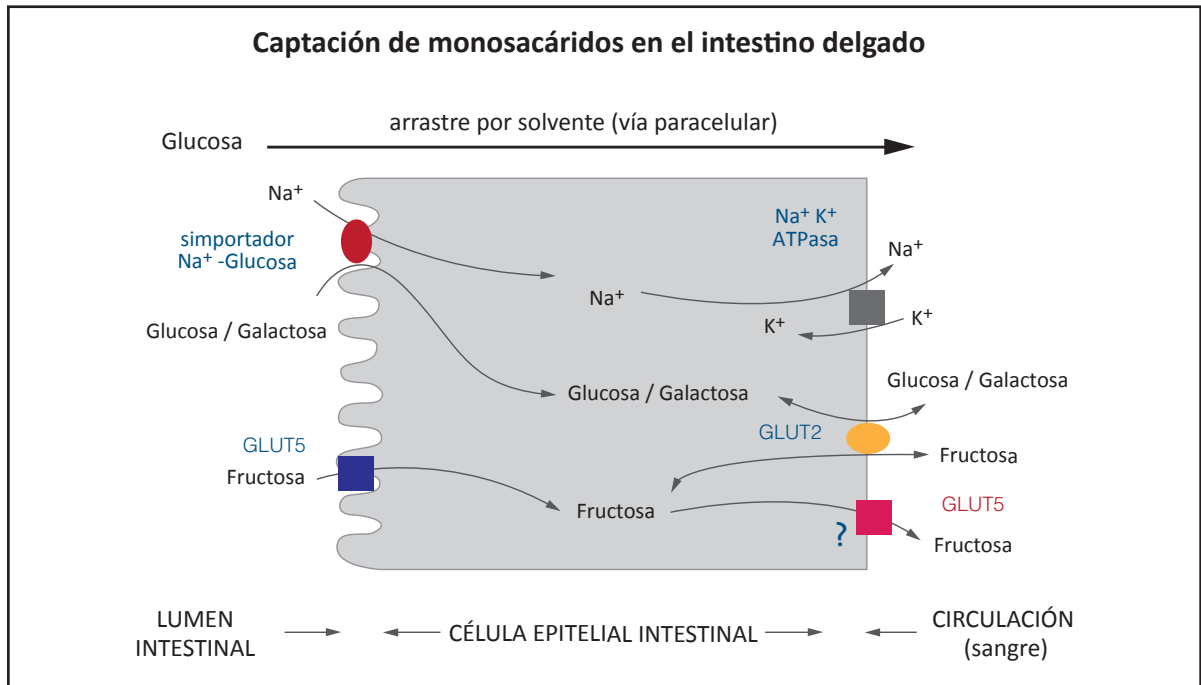


Figura 5. Esquema descriptivo del transporte de monosacáridos por las células epiteliales del intestino delgado.

el intestino. Estudios realizados en modelos animales han mostrado que para concentraciones altas de glucosa intraluminal, la cantidad de azúcar absorbida por el intestino es en realidad tres a cinco veces mayor que aquella transportada por SGLT1 (Figura 6). Estudios recientes han mostrado que GLUT2 está presente en vesículas intracitoplasmáticas; cuando la concentración postprandial de glucosa aumenta en el enterocito, estas vesículas migran hacia la membrana plasmática del ribete estriado y GLUT2 es insertado en su membrana plasmática, permitiendo la absorción de la glucosa y fructosa en forma rápida y sin gasto de energía. Este proceso es regulado por la insulina ya que cuando aumenta en la circulación estimula la reinternalización de GLUT2 hacia el citoplasma mediante vesículas, disminuyendo de esta forma el paso de glucosa y fructosa a través del epitelio. Esta vía de regulación estaría alterada en la diabetes mellitus, en la que GLUT2 quedaría inser-

tada permanentemente en la membrana apical (72). La fructosa, una cetohexosa cuya estructura química es diferente de la glucosa y la galactosa, es absorbida hacia el citoplasma de los enterocitos por un mecanismo de difusión facilitada mediante GLUT5. Esta proteína integral de la membrana apical transporta eficientemente a la fructosa de manera independiente de los gradientes iónicos. Al igual que la glucosa y la galactosa, la fructosa sale de los enterocitos por la membrana basolateral mediante GLUT2. Además de estar presente en la membrana apical, GLUT5 se puede encontrar en bajas cantidades en la membrana basolateral donde posiblemente desempeña funciones complementarias a las de GLUT2 (73). La presencia de altas concentraciones intraluminales de fructosa promovería la inserción de GLUT2 en la membrana apical, donde podría contribuir, con GLUT5, a la absorción de este monosacárido (Figura 7) (72).

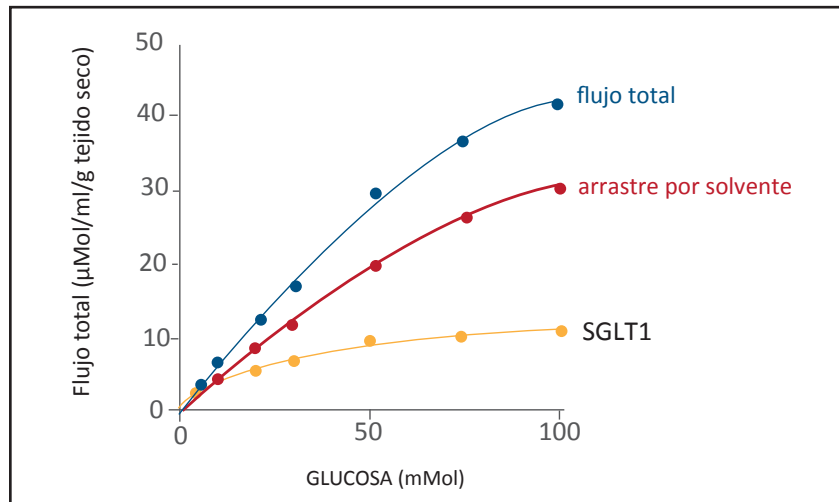


Figura 6. Flujo total de glucosa y mediante SGLT1 a través del epitelio intestinal. En la hipótesis clásica, el paso de glucosa por la vía paracelular mediante arrastre por solvente explicaría la diferencia entre el flujo total y el transporte por SGLT1.

La abundancia relativa de ARN mensajeros que codifican para los tres principales transportadores de hexosas muestra variaciones circadianas con un marcado incremento inmediatamente antes del periodo de alimentación. Los estudios en modelos animales han mostrado que la glucosa intraluminal liberada durante la digestión de los carbohidratos induce un incremento de la abundancia de ARN mensajeros para SGLT1 y GLUT2 (74). Asimismo, la presencia de sacarosa o fructosa en el lumen intestinal causa un incremento abrupto y específico de la síntesis del ARN mensajero que codifica a GLUT5 (75).

El AMP cíclico (AMPc) causa aumentos de la capacidad de transporte que exhiben SGLT1, GLUT2 y GLUT5. Además, el AMPc regula la velocidad del procesamiento postsintético intracelular de SGLT1 y GLUT2 mediante la estimulación de la fusión de las vesículas de transporte intracelular con la membrana apical, incrementando de esta manera el número de moléculas transportadoras activas disponibles en la superficie de las microvellosidades. En el caso de SGLT1, la activación de las proteína-quinasa A y C intracelulares también incrementa la transferencia de los transportadores desde las vesículas intracelulares hasta la membrana celular apical. Estos mecanismos contribuyen a que los incrementos de la concentración de AMPc causen a su vez aumentos

de hasta 100 veces de la capacidad de transporte de aldohexosas en comparación con el estado basal, sin modificaciones de las propiedades cinéticas de los transportadores (76).

En contraste con los mecanismos de regulación de SGLT1 y GLUT2 por el AMPc, el transportador GLUT5 es regulado a nivel de la síntesis de su ARN mensajero. La activación de proteína-quinasa dependientes de AMPc estabiliza y aumenta las concentraciones del ARN mensajero de GLUT5, resultando en el aumento de la síntesis de su proteína (77). Se ha sugerido también que las vías de señalización intracelular mediadas por quinasa dependientes del inositol-3P modulan la actividad de GLUT5 sin cambios en la abundancia de su ARN mensajero.

Principales rutas metabólicas de los monosacáridos en los seres humanos

Los tres principales monosacáridos que pueden ser metabolizados por el organismo humano son la glucosa, la galactosa y la fructosa. Otros monosacáridos que logran ser absorbidos requieren ser transformados enzimáticamente en glucosa antes de ser metabolizados, ya que de lo contrario son excretados por la vía urinaria.

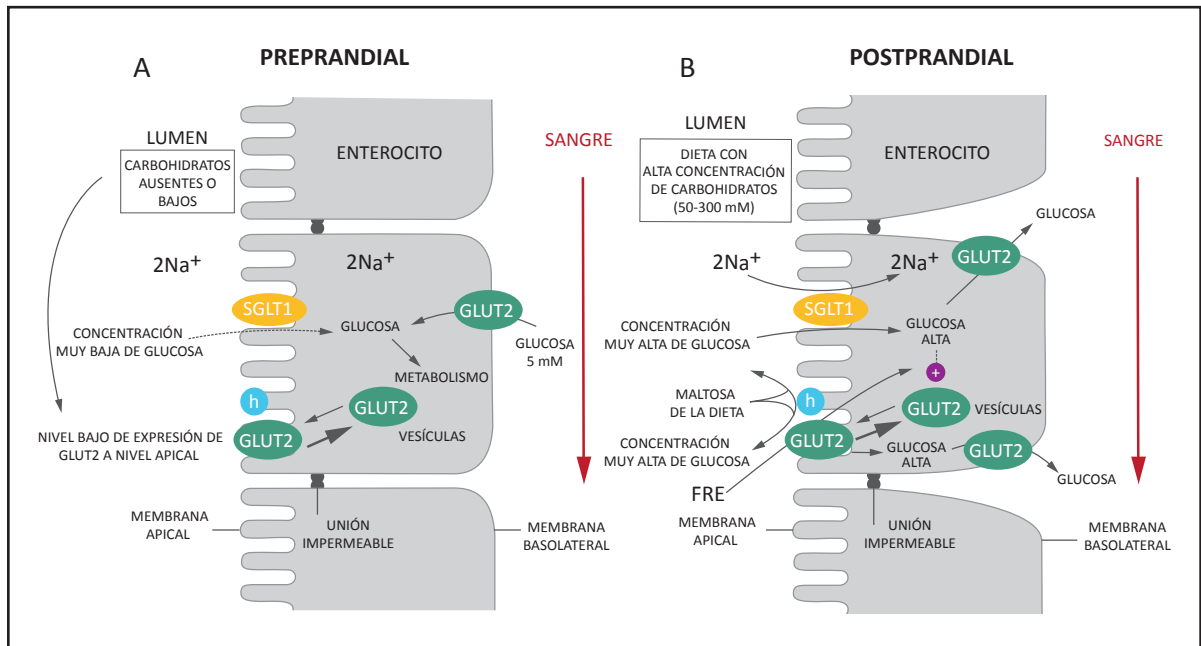


Figura 7. Modelo de la absorción intestinal de glucosa mediante GLUT2 apical antes (A) y después (B) de una comida con concentración muy alta de carbohidratos.

Dependiendo de los requerimientos energéticos, la glucosa puede seguir dos vías metabólicas diferentes: en condiciones de alta demanda energética sigue predominantemente la ruta oxidativa con producción de CO_2 , H_2O y de energía en forma de ATP; en condiciones de baja demanda energética la glucosa es almacenada en el hígado y el músculo como glicógeno (glucogénesis), mientras que su almacenamiento en el tejido adiposo implica su transformación previa en ácidos grasos, precursores de lípidos (78,79,80).

Metabolismo de la glucosa

El hígado es el principal órgano que controla las vías metabólicas de la glucosa después de su absorción y transporte por la vena porta. A su vez, la insulina y el glucagón son los principales reguladores hormonales para la incorporación de glucosa tanto por las células hepáticas como por otras células del organismo. El cerebro y el músculo son los dos tejidos extrahepáti-

cos con el mayor metabolismo oxidativo de glucosa. La entrada de la glucosa a las células del organismo depende del transportador GLUT2 y de la enzima hexoquinasa, que cataliza la fosforilación de glucosa generando glucosa-6-P. La hexoquinasa es activada por la insulina, lo que ocasiona el rápido transporte de la glucosa al interior de las células y su retención. El glucagón tiene un efecto opuesto sobre la hexoquinasa y en consecuencia permite la liberación de glucosa desde el citoplasma hacia el compartimiento extracelular. Una vez que la glucosa se encuentra en el citoplasma, puede ingresar a la vía metabólica de oxidación con producción de energía, que involucra los procesos de glicólisis anaeróbica, el ciclo del ácido cítrico y la cadena respiratoria / fosforilación oxidativa mitocondrial, o bien seguir la vía del almacenamiento con producción de glicógeno y ácidos grasos. En la vía glicolítica anaeróbica (Figura 8) la glucosa-6-P es isomerizada a fructosa-6-P la cual es fosforilada nuevamente generando fructosa-1,6-difosfato (Figura 8). Este paso es la principal etapa de regulación

del acceso de la glucosa a la glicólisis, e involucra al AMP como regulador alostérico de la 6-fosfo-fructoquinasa que cataliza esta reacción. Dependiendo de las condiciones redox intracelulares, la vía glicolítica puede tener como productos finales al ácido pirúvico o al ácido láctico: altas concentraciones de H^+ en forma de NADH (Nicotinamida adenina dinucleótido) o NADPH, ambos generados por la vía del ácido cítrico, causan la acumulación de lactato y la disminución del piruvato, limitando la disponibilidad de este último para la misma vía del citrato. Por el contrario, concentraciones bajas de NADH o NADPH causan incrementos de la concentración de piruvato, el principal sustrato para la vía del ácido cítrico. El acceso del piruvato a esta vía, también conocida como ciclo de Krebs o de los ácidos tricarbónicos, implica su transformación irreversible en acetato, catalizada por la piruvato deshidrogenasa, con remoción de un carbono en forma de CO_2 y la asociación del acetato al cofactor conocido como Coenzima A (CoA) (Figura 8). La piruvato deshidrogenasa está formada por múltiples subunidades y es susceptible de ser regulada alostéricamente por diversos metabolitos, lo que la transforma en el principal punto de control de la vía del ácido cítrico. Los reguladores más relevantes son las concentraciones relativas de ADP/ATP y de NAD/NADH; el ADP y el NAD activan a la enzima mientras que el ATP y el NADH disminuyen su actividad. Aunque en los vegetales la producción de nuevas moléculas de glucosa (gluconeogénesis) es posible a partir de grupos acetatos, en la mayoría de los mamíferos este paso es irreversible y, por lo tanto, la gluconeogénesis ocurre por vías completamente diferentes que dependen de la transformación de aminoácidos en piruvato. Esta es la principal causa de la incapacidad que tienen los seres humanos para producir glucosa a partir de los grupos acetato generados por la β -oxidación de ácidos grasos. El acetato producido en la reacción anterior es transportado al interior de las mitocondrias (Figura 9) donde es condensado con una molécula de ácido oxalacético, generando el ácido cítrico del que esta vía metabólica toma su nombre. En la vía del ácido cítrico (Figura 9) los carbonos de la molécula

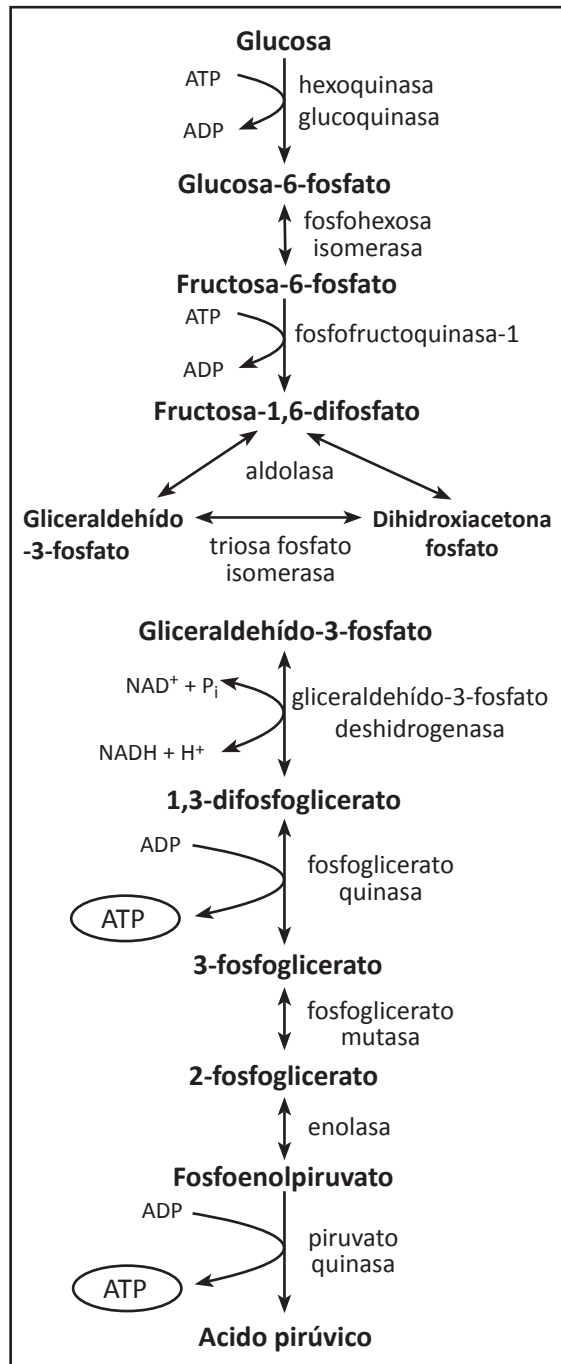


Figura 8. Vía glicolítica anaerobia.

de acetato son oxidados hasta CO_2 y gran cantidad de intermediarios reductores como son el NADH y el FADH_2 (Flavin adenosin dinucleótido reducido), además de algunas moléculas de guanosín trifosfato (GTP). El NADH y el FADH_2 son usados posteriormente como donantes de protones para generar el gradiente electroquímico transmembranal que genera la energía necesaria para la producción de ATP

por la cadena respiratoria en las mitocondrias.

En el caso de las vías de almacenamiento de la glucosa, en presencia de bajas concentraciones de AMP y baja actividad de la 6-fosfofructoquinasa, la glucosa-6-P acumulada en el citoplasma es isomerizada a glucosa-1-P y posteriormente transformada en UDP-glucosa , para seguir la vía de glicogénesis con la producción de glicógeno. Este último es la forma de al-

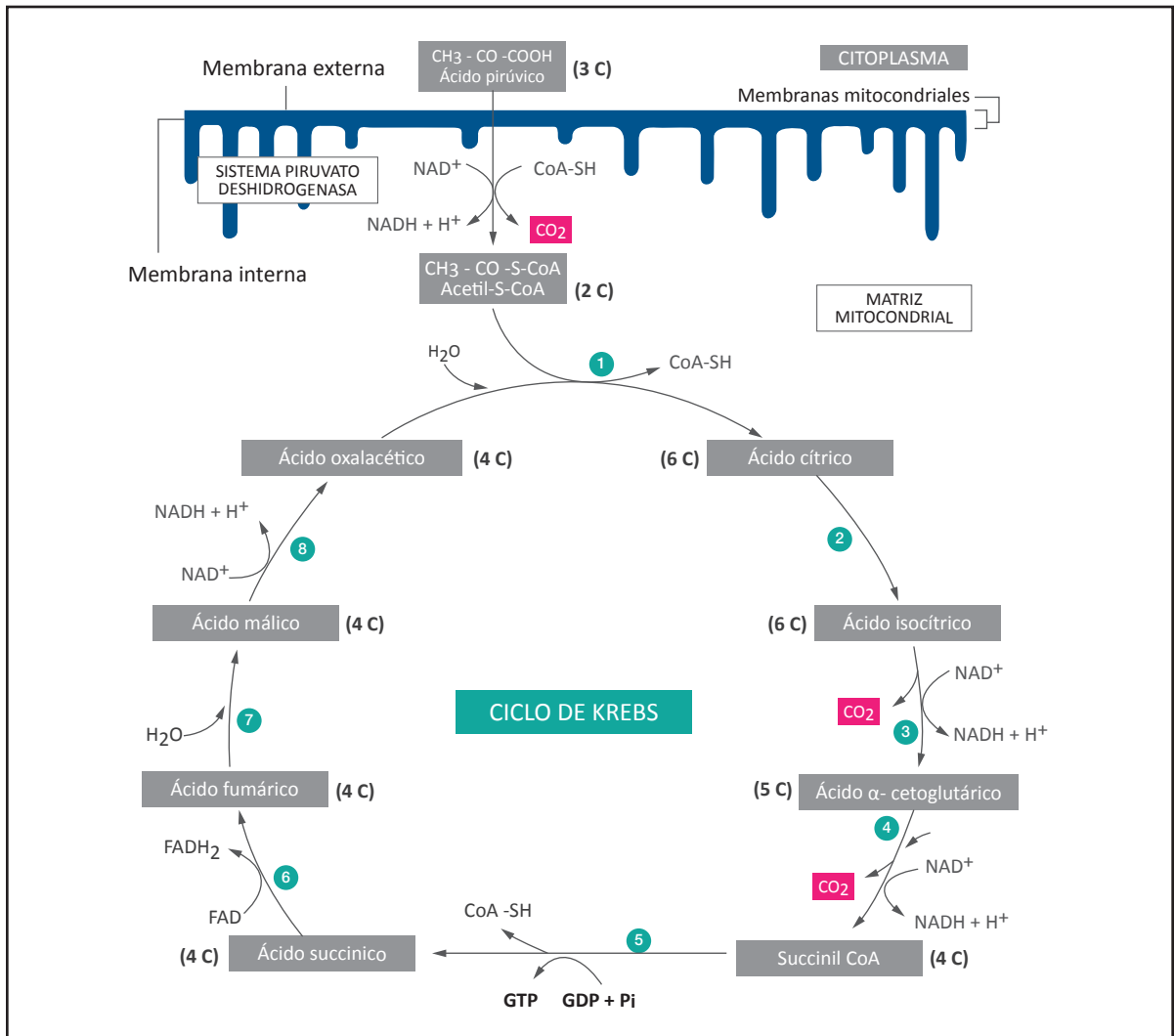


Figura 9. Ciclo de Krebs.

macenamiento de la glucosa en los tejidos animales. Además, en el tejido adiposo la glucosa sigue una vía glicolítica modificada con producción de gliceraldehído-3-P, que es usado en la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos sin que se produzca piruvato, lactato o energía (78,79,80).

Metabolismo de la fructosa

La fructosa puede ser metabolizada directamente por la vía glicolítica mediante la producción de fructosa-1-P, que es catalizada por la fructoquinasa. La aldolasa, perteneciente a la vía glicolítica, hidroliza la fructosa-1-P generando dihidroxi-acetona-P y gliceraldehído; este último es fosforilado y genera gliceraldehído-3-P. Ambos productos son idénticos a los dos intermediarios de tres carbonos producidos durante la glicólisis, por lo que pueden incorporarse a esta vía metabólica. Por lo tanto, esta vía de degradación de la fructosa representa un atajo en la vía glicolítica seguida normalmente por la glucosa, lo cual podría explicar la mayor velocidad de metabolización de la fructosa (78,79,80).

Metabolismo de galactosa

Para el metabolismo de la galactosa es indispensable su conversión en glucosa por una vía relativamente compleja. Inicialmente la galactosa debe ser fosforilada en el hígado por la galactoquinasa; posteriormente con la participación del enzima galactosa-1P-uridil-transferasa, la galactosa-1-P es intercambiada con la glucosa presente en la UDP-glucosa, lo que genera UDP-galactosa y libera glucosa-1-P. A su vez la UDP-galactosa es transformada en UDP-glucosa por la UDP-galactosa 4-epimerasa. La galactosa transformada en UDP-glucosa puede seguir la vía glicogénica o cualquiera de las rutas catabólicas normales de glucosa (78, 79, 80). La deficiencia de la actividad de la galactosa-1-P-uridil-transferasa da origen a una enfermedad metabólica, la galactosemia clásica, caracterizada por ictericia, cirrosis, disfunción del sistema nervioso central y cataratas, probablemente

como consecuencia de la acumulación intracelular de galactosa-1-P y formación de galactitol.

Alteraciones de la digestión y absorción de los hidratos de carbono

La digestión y absorción de los hidratos de carbono puede ser afectada por diversos factores. El primero es la duración de la masticación y el tiempo que el bolo alimenticio pasa en la boca, que puede afectar la interacción entre los almidones y la amilasa salival. Este es generalmente un período relativamente corto, después del cual el bolo queda expuesto al pH bajo del estómago, que inactiva a la amilasa. El estómago actúa primordialmente como un reservorio donde los alimentos se mezclan con los jugos gástricos y cuya velocidad de vaciamiento depende en gran medida de su composición. La presencia de grasas, fibra dietética y alimentos con alta osmolaridad retarda la velocidad del vaciamiento gástrico y por lo tanto, la velocidad global de la absorción de los hidratos de carbono. La motilidad intestinal es variable y depende de características propias del individuo y de la composición de los alimentos. Sin embargo, en ausencia de enfermedades intestinales o pancreáticas, la motilidad y la velocidad del tránsito intestinal parecen tener un efecto limitado sobre la absorción de nutrientes.

Los factores que tienen mayor efecto en la velocidad de absorción de los hidratos de carbono son la hidrólisis de estos compuestos en el lumen y el ribete estriado de los enterocitos y el transporte de los monosacáridos libres resultantes hasta el torrente sanguíneo. La velocidad de transporte de la glucosa desde el ribete estriado hasta el torrente sanguíneo, parece ser el factor limitante para los polímeros de este monosacárido. En cambio, para otros hidratos de carbono como la lactosa, el factor limitante parece ser su velocidad de hidrólisis.

Las alteraciones de la digestión y absorción de los disacáridos: lactosa, sacarosa o galactosa causan incrementos de la presión osmótica intraluminal y movimiento de agua y electrolitos hacia el lumen.

Los hidratos de carbono no digeridos o absorbidos llegan al colon donde poblaciones bacterianas de la microbiota autóctona los fermentan con producción de ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato). El propionato y principalmente el acetato son absorbidos y pasan al hígado para ser metabolizados permitiendo el rescate de parte de su energía que de otra forma se habría perdido por las deposiciones (rescate colónico) (81). La fermentación colónica de los hidratos de carbono no digeribles también resulta en la producción de metano, CO₂ e hidrógeno. La medición del incremento del H₂ en el aire espirado se emplea como evidencia del aumento de los procesos de fermentación que ocurren en el colon después de su consumo. Los productos de fermentación también causan incrementos de la presión osmótica en el colon con acumulación de fluidos y gases que se pueden manifestar por borborismos, meteorismo, dolor abdominal cólico y diarrea acuosa con expulsión de gases. En la infancia temprana la fermentación intestinal puede causar una diarrea osmótica ácida sensible a la dieta, con presencia en las deposiciones de carbohidratos no absorbidos y de los síntomas antes nombrados y ocasionalmente vómitos.

La sintomatología de la malabsorción primaria de hidratos de carbono, causada por la deficiencia de una disacaridasa o de un transportador de monosacáridos, es similar a la de las deficiencias secundarias debidas a infecciones o patologías que afectan a la mucosa del intestino delgado por procesos inflamatorios. En algunos casos, estas patologías disminuyen la superficie del intestino delgado y su capacidad de absorción.

Alteraciones de los procesos digestivos y de absorción en el lumen intestinal

Las alteraciones de la digestión de los almidones debidas a deficiencias de la amilasa pancreática son muy raras. Aunque un porcentaje pequeño del almidón puede escapar a la acción de las amilasas, este efecto no se debe a la secreción de una cantidad limitada de amilasas sino más bien al estado físico de

los almidones (cristalino o recubierto por celulosa y otros tipos de fibra) que impide la interacción de las enzimas con su sustrato. La cantidad de amilasa pancreática secretada como respuesta a la ingestión de alimentos, excede largamente a la cantidad mínima necesaria para lograr la digestión total de los almidones. La disminución de la secreción de amilasa hasta niveles de 10% de las cantidades normales generalmente no tiene efectos fisiológicos significativos. Además, la redundancia de los genes que codifican a las amilasas salival y pancreática explicaría la baja frecuencia de las deficiencias de estas enzimas. En la mayoría de los seres humanos, el genoma contiene dos copias idénticas de los genes que codifican la amilasa salival y otras dos para la amilasa pancreática. Los patrones y magnitudes de la expresión de estos genes puede variar en los distintos individuos, observándose cambios que van desde la transcripción activa de sólo una de las copias del gen, hasta la transcripción activa y simultánea de las cuatro copias (26).

Los estudios epidemiológicos de las actividades de las disacaridasas intestinales han mostrado que existen variaciones entre grupos étnicos. Por ejemplo, en la población esquimal de Groenlandia existe una frecuencia relativamente alta de individuos que muestran bajos niveles de las actividades de lactasa y de sacarasa (82). Estudios en sujetos normales o con deficiencias de lactasa (hipolactasia) han dado lugar a su clasificación en tres fenotipos principales: a) la hipolactasia de los adultos, que corresponde al fenotipo más común en la población humana, en quienes los niveles de actividad de lactasa fueron altos durante su infancia y disminuyeron durante la infancia tardía o la adolescencia hasta niveles por debajo del 10% de la actividad presente en la infancia temprana; b) los sujetos lactasa-persistente, en quienes la actividad de la enzima permanece elevada durante la edad adulta. Son sujetos cuyo lugar de origen étnico es principalmente el noreste de Europa y Escandinavia y regiones y grupos étnicos restringidos de África donde existen grupos de población que tradicionalmente han consumido leche (83) y c) la deficiencia congénita de lactasa, en que

la actividad de la lactasa está ausente o en niveles muy bajos al nacer; es un defecto muy raro y se concentra en poblaciones con alta tasa de consanguinidad: esquimales de Groenlandia, Inuits del norte canadiense y familias finlandesas (82).

La identificación y descripción de la deficiencia congénita de lactasa llevó a la búsqueda de deficiencias congénitas que podrían afectar a las otras disacaridasas. La deficiencia de SI, particularmente de su actividad de sacarasa, resultó ser una de las alteraciones digestivas de origen genético más frecuentes. Esta alteración se puede presentar como una deficiencia aislada de la actividad de la sacarasa con niveles normales de actividad de isomaltasa, o como una deficiencia combinada de ambas actividades (84,40). Existen observaciones aisladas que sugieren la existencia de deficiencias que involucran exclusivamente a la actividad de isomaltasa pero no hay publicaciones que demuestren la ocurrencia de este defecto en los seres humanos. Lo anterior parece implicar que el procesamiento y transporte de la SI depende en gran medida de la estructura y función correcta de su subunidad isomaltasa. Por otro lado, en todos los casos de deficiencias de sacarasa estudiados se ha logrado detectar la presencia de moléculas inactivas de la enzima con dos situaciones alternativas: en la primera, la molécula de SI es sintetizada y transportada a la membrana apical pero su subunidad de sacarasa es inactiva debido a alteraciones moleculares de origen genético. En el segundo caso la molécula de SI es sintetizada normalmente pero su transporte hacia la membrana plasmática de las microvellosidades no se lleva a cabo debido a la presencia de mutaciones que lo bloquean, resultando en su acumulación en el citoplasma y su eventual degradación (84).

La MGAM es la enzima con la mayor velocidad de degradación para los oligómeros de glucosa provenientes de la digestión de los almidones por las amilasas. Hasta ahora no se han identificado con certeza casos de deficiencia aislada de causa genética de esta enzima. La mayoría de las publicaciones acerca de las deficiencias de MGAM se refieren a casos en los que está asociada con deficiencias de otras dis-

acaridasas (85, 86), lo que sugiere que son debidos a factores no genéticos o a deficiencias de factores de regulación de la expresión génica comunes para varias o todas las disacaridasas intestinales. Además, aunque han sido identificados polimorfismos genéticos de la MGAM, no parecen estar asociados con defectos de la actividad de la enzima. El único caso reconocido de deficiencia genética de MGAM en mamíferos ha sido descrito en ratones CBA/CaJ y al parecer involucra una deficiencia de la síntesis de la enzima (87). En estos ratones y en otros cuyo gen de la MGAM fue inactivado artificialmente, el aporte limitado de glucosa causado por la deficiente digestión de los oligómeros de glucosa parece ser compensado por la gluconeogénesis hepática.

La deficiencia genética de trehalasa fue descrita por primera vez en la población de nativos Inuit canadienses, con una frecuencia de alrededor del 8% (88). Sin embargo, estudios más recientes en poblaciones de Finlandia y del Reino Unido han mostrado una ocurrencia de entre 0 y 3%. Los síntomas observados son similares a los que produce la deficiencia de otras disacaridasas pero se asocian exclusivamente con el consumo de champiñones (89).

Otro grupo de alteraciones relativamente raras corresponde a los defectos estructurales de los transportadores SGLT1 y GLUT2. SGLT1 transporta en forma activa glucosa o galactosa libres a través de la membrana apical de los enterocitos hacia el citoplasma en un proceso que involucra el cotransporte de sodio (90,71). Se han identificado mutaciones de SGLT1 que afectan su procesamiento y transporte intracelular y causan su acumulación en compartimentos del aparato de Golgi con ausencia de su inserción en la membrana plasmática de las microvellosidades (90, 71). La malabsorción de glucosa-galactosa es generalmente identificada muy tempranamente en la vida de los afectados y puede ser fatal a menos que todos los hidratos de carbono sean eliminados de la dieta. Aunque los sujetos que sufren este defecto pueden absorber fructosa normalmente, la sacarosa, formada por fructosa y glucosa, no es tolerada.

Las mutaciones del transportador GLUT2 no pa-

recen afectar la absorción de glucosa y galactosa. Por otro lado, no se han identificado en los seres humanos mutaciones de GLUT5 con efectos metabólicos. Los papeles complementarios de GLUT2 y GLUT5 parecen ejercer un efecto compensador para los defectos de la actividad de GLUT2. Además de estar expresado en el epitelio intestinal, el transportador GLUT2 está expresado también en el riñón, el hígado y las células beta de los islotes del páncreas (71). Se cree que GLUT2 colabora en el páncreas con funciones de sensor de las concentraciones de glucosa circulante en el plasma, necesarias para la regulación de la secreción de insulina. Las alteraciones estructurales, de origen genético, de este transportador son las principales causas del síndrome de Fanconi-Bickel, una enfermedad genética autosómica recesiva con acumulación renal y hepática de glucógeno, disfunción de los túbulos renales proximales y menor tasa de metabolismo de glucosa y galactosa (90, 71).

Deficiencias adquiridas de la digestión de los hidratos de carbono

La causa más común de aparición de síndromes causados por deficiencias de la absorción de hidratos de carbono es la hipolactasia, la que se puede manifestar en cualquier etapa del desarrollo temprano, desde poco después del destete hasta la adolescencia temprana. Como se mencionó anteriormente, este proceso ocurre en la mayor parte de la población humana como resultado de la disminución genéticamente programada de la expresión de LPH, por lo que se puede considerar como el fenotipo normal de los adultos sanos. Aún en la población caucásica originaria del norte de Europa se pueden encontrar casos de hipolactasia con una frecuencia que oscila entre 5 y 20%. Sin embargo, comparativamente, la capacidad de digestión de lactosa de los seres humanos es substancialmente menor que la de los almidones, incluso en las poblaciones que expresan lactasa en la edad adulta.

Los procesos de digestión de almidones y oligómeros de glucosa, así como el transporte final de los mono-

sacáridos resultantes, son suficientemente eficientes como para lograr la hidrólisis y absorción prácticamente total de los almidones en la mitad proximal del intestino delgado. Aunque generalmente el íleon desempeña un papel secundario en este proceso, este segmento es capaz de adaptarse y desempeñar funciones primarias en la digestión y absorción de los carbohidratos en situaciones en las que existe disfunción yeyunal o resecciones de los segmentos proximales del intestino delgado.

Cuadros patológicos del intestino delgado, tales como la enfermedad celíaca y la enfermedad de Crohn, inducen procesos inflamatorios de la mucosa intestinal, atrofia de las vellosidades intestinales y deficiencias de las actividades de las disacaridasas (91). Asimismo, algunos procesos inflamatorios sistémicos, tales como la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), pueden inducir deficiencias de las disacaridasas aún en ausencia de atrofia de la mucosa intestinal (92). En ocasiones, la intensidad de las deficiencias de las disacaridasas no se correlaciona con los cambios morfológicos del epitelio o con la pérdida de la actividad de otras enzimas de la mucosa intestinal, lo que sugiere que en estos casos las deficiencias son ocasionadas por cambios en la regulación genética o metabólica de los enterocitos.

La ausencia prolongada de ingestión de alimentos produce atrofia de la mucosa y de las vellosidades intestinales con la consiguiente disminución de la actividad enzimática de las disacaridasas y de otras enzimas del epitelio intestinal. Esta atrofia, que conlleva el acortamiento de las vellosidades y la disminución de su contenido de ADN y de proteínas, así como el deterioro de la inmunidad de la mucosa, parece ser causada por la ausencia de estímulos hormonales endocrinos o paracrinos y puede ser revertida por la restitución de la alimentación entérica. Este efecto de atrofia de la mucosa intestinal constituye un serio problema, particularmente para los recién nacidos prematuros, que pueden requerir nutrición parenteral por períodos prolongados y puede manifestarse al cabo de pocos días de haber sido iniciada dicha forma de nutrición (93).

En los casos de desnutrición es común la presencia de niveles bajos de actividad de las disacaridasas intestinales. Durante el desarrollo postnatal, dietas deficientes en proteína o hierro pueden causar deficiencias reversibles de los niveles de actividad de LPH, SI y MGAM (94).

Otras condiciones patológicas que se asocian con deficiencias secundarias de las disacaridasas intestinales son las infecciones por agentes bacterianos, virales o parásitos. La disminución de las disacaridasas intestinales por efecto de infecciones parasitarias intestinales ha sido estudiada en detalle en las infecciones por protozoarios (95) y por algunos helmintos (96). Aunque existen pocos estudios acerca de los efectos directos de las infecciones intestinales bacterianas se ha observado que algunas toxinas de este origen modifican la actividad de las disacaridasas (97). En el caso de las infecciones virales, aquellas causadas por el rotavirus, que son una de las principales causas de enfermedad diarreica en los niños, inducen una disminución de las actividades de la SI y LPH (98).

Existen productos químicos capaces de inhibir los enzimas glicohidrolíticos y que han sido usados con cierta frecuencia con fines clínicos o experimentales. Por ejemplo, el Trisma Base [2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol], un amino-alcohol, es usado ocasionalmente para el tratamiento de la acidosis y es un potente inhibidor reversible de las disacaridasas intestinales (99). Este compuesto es utilizado en una de las técnicas más ampliamente usadas para medir la actividad de las disacaridasas intestinales y de otras α -glucosidasas (100). Asimismo la acarbosa, un acil-trisacárido análogo de la maltotetraosa, es un potente inhibidor de las glucosidasas usado frecuentemente para el control de la glicemia en pacientes con diabetes tipo I y II y ha sido propuesto para el control de la obesidad (101). El salacinol es un derivado heterocíclico del ión sulfonio, con alta actividad inhibitoria sobre las glucosidasas; es también el principio activo de *Salacia reticulata*, una planta usada ampliamente en la medicina tradicional de la India para la preparación de bebidas hipoglicemiantes para pacientes diabéticos.

Terapias comunes para el tratamiento del síndrome de malabsorción

Los carbohidratos son una fuente calórica de bajo costo relativo en la dieta de los seres humanos; sin embargo, en situaciones especiales algunos individuos requieren dietas restringidas en cuanto a la cantidad o tipos de hidratos de carbono. En caso de que se detecte la existencia de alteraciones de su digestión o absorción, la forma principal y más efectiva de tratamiento es la eliminación total o parcial del hidrato de carbono involucrado. Por ejemplo, para los individuos que sufren de cualquier forma de hipolactasia, frecuentemente es necesaria la eliminación de la leche. Dado que la leche y los productos lácteos son una excelente fuente de proteínas y calcio, es generalmente útil la adición de lactasas (β -galactosidasas) de origen microbiano o de hongos con capacidad para hidrolizar a la lactosa de la leche (102). Otra alternativa es el consumo de productos lácteos fermentados, con bajo contenido de lactosa. De igual manera, se ha demostrado que el uso de suplementos que contienen preparaciones de sacarasa derivada de levaduras tiene un claro efecto benéfico en la digestión de sacarosa por los pacientes con deficiencias de SI (103).

Referencias

1. Holliday, MA. Metabolic Rate and Organ Size During Growth From Infancy to Maturity and During Late Gestation and Early Infancy. *Pediatrics*. 1971; 47 (Suppl): 169-179.
2. Chugani, HT. A Critical Period of Brain Development: Studies of Cerebral Glucose Utilization With PET. *Prev Med*. 1998; 27: 184-188.
3. Rolfe, RD. The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. *J Nutr*. 2000; 130: 396S-402S.
4. Freitas, M, Tavan, E, Cayuela, C, Diop, L, Sapin, C, Trugnan, G. Host-Pathogens Cross-Talk. Indigenous Bacteria and Probiotics Also Play the Game. *Biol Cell*. 2003; 95: 503-506.
5. Anderson, JW. Physiological and Metabolic Effects of Dietary Fiber. *Fed Proc*. 1985; 44: 2902-2906.
6. Livesey, G. Low-Glycaemic Diets and Health: Implications for Obesity. *Proc Nutr Soc*. 2005; 64: 105-113.
7. Correa-Matos, NJ, Donovan, SM, Isaacson, RE, Gaskins, HR, White, BA, Tappenden, KA. Fermentable Fiber Reduces Recovery Time and Improves Intestinal Function in Piglets Following Salmonella Typhimurium Infection. *J Nutr*. 2003; 133: 1845-1852.
8. Zhang, G, Ao, Z, Hamaker, BR. Slow Digestion Property of Native Cereal Starches. *Biomacromolecules*. 2006; 7: 3252-3258.
9. Englyst, KN, Vinoy, S, Englyst, HN, Lang, V. Glycaemic Index of Cereal Products Explained by Their Content of Rapidly and Slowly Available Glucose. *Br J Nutr*. 2003; 89: 329-340.
10. Foda, MI, Kawashima, T, Nakamura, S, Kobayashi, M, Oku, T. Composition of Milk Obtained From Unmassaged Versus Massaged Breasts of Lactating Mothers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004; 38: 484-487.
11. Montgomery, RK, Buller, HA, Rings, EHM, Grand, RJ. Lactose Intolerance and the Genetic Regulation of Intestinal Lactase-Phlorizin Hydrolase. *FASEB J*. 1991; 5: 2824-2832.
12. Buller, HA, Van Wassenaeer, AG, Raghavan, S, Montgomery, RK, Sybicki, MA, Grand, RJ. New Insights into Lactase and Glycosylceramidase Activities of Rat Lactase-Phlorizin Hydrolase. *Am J Physiol*. 1989; 257: G616-G623.
13. Dobrovolskaya, MV. Upper Paleolithic and Late Stone Age Human Diet. *Journal of Physiology, Anthropology and Applied Human Science*. 2005; 24: 433-438.
14. Lee, PC. Digestibility of Starches and Modified Food Starches. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1983; 2: S227-S232.
15. Englyst, KN, Englyst, HN, Hudson, GJ, Cole, TJ, Cummings, JH. Rapidly Available Glucose in Foods: an in Vitro Measurement That Reflects the Glycemic Response. *Am J Clin Nutr*. 1999; 69: 448-454.
16. Robertson, JA. Physicochemical Characteristics of Food and the Digestion of Starch and Dietary Fibre During Gut Transit. *Proc Nutr Soc*. 1988; 47: 143-152.
17. Corring, T. The Adaptation of Digestive Enzymes to the Diet: Its Physiological Significance. *Reprod Nutr Dev*. 1980; 20:1 217-1235.
18. Jones, BJ, Brown, BE, Loran, JS, Edgerton, D, Kennedy, JF, Stead, JA, Silk, DB. Glucose Absorption From Starch Hydrolysates in the Human Jejunum. *Gut*. 1983; 24: 1152-1160.

19. Rosenblum, JL, Irwin, CL, Alpers, DH. Starch and Glucose Oligosaccharides Protect Salivary-Type Amylase Activity at Acid PH. *Am J Physiol.* 1988; 254: G775-G780.
20. Lebenthal, E, Lee, PC, Heitlinger, LA. Impact of Development of the Gastrointestinal Tract on Infant Feeding. *J Pediatr.* 1983; 102: 1-9.
21. Quezada-Calvillo, R, Sim, L, Ao, Z, Hamaker, BR, Quaroni, A, Brayer, GD, Sterchi, EE, Robayo-Torres, CC, Nichols, BL. Luminal Starch Substrate "Brake" on Maltase-Glucoamylase Activity Is Located Within the Glucoamylase Subunit. *J Nutr.* 2008; 138: 685-692.
22. Quezada-Calvillo, R, Robayo-Torres, CC, Ao, Z, Hamaker, BR, Quaroni, A, Brayer, GD, Sterchi, EE, Baker, SS, Nichols, BL. Luminal Substrate "Brake" on Mucosal Maltase-Glucoamylase Activity Regulates Total Rate of Starch Digestion to Glucose. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007; 45:32-43.
23. Japto, M. Sugarcane As History in Paule Marshall's "To Da-Duh, in Memoriam". *African American Review.* 2000; 34: 475-482.
24. Richards, AB, Krakowka, S, Dexter, LB, Schmid, H, Wolterbeek, AP, Waalkens-Berendsen, DH, Shigoyuki, A, Kurimoto, M. Trehalose: a Review of Properties, History of Use and Human Tolerance, and Results of Multiple Safety Studies. *Food Chem Toxicol.* 2002; 40: 871-898.
25. Zabel, BU, Naylor, SL, Sakaguchi, AY, Bell, GI, Shows, TB. High-Resolution Chromosomal Localization of Human Genes for Amylase, Pro-opiomelanocortin, Somatostatin, and a DNA Fragment (D3S1) by in Situ Hybridization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983; 80: 6932-6936.
26. Iafrate, AJ, Feuk, L, Rivera, MN, Listewnik, ML, Donahoe, PK, Qi, Y, Scherer, SW, Lee, C. Detection of Large-Scale Variation in the Human Genome. *Nat Genet.* 2004; 36: 949-951.
27. Williams, JA, Sans, MD, Tashiro, M, Schafer, C, Bragado, MJ, Dabrowski, A. Cholecystokinin Activates a Variety of Intracellular Signal Transduction Mechanisms in Rodent Pancreatic Acinar Cells. *Pharmacol Toxicol.* 2002; 91: 297-303.
28. Wasle, B, Edwardson, JM. The Regulation of Exocytosis in the Pancreatic Acinar Cell. *Cell Signal.* 2002; 14: 191-197.
29. Maurus, R, Begum, A, Kuo, HH, Racaza, A, Numa, S, Andersen, C, Tams, JW, Vind, J, Overall, CM, Withers, SG, Brayer, GD. Structural and Mechanistic Studies of Chloride Induced Activation of Human Pancreatic Alpha-Amylase. *Protein Sci.* 2005; 14: 743-755.
30. Brayer, GD, Sidhu, G, Maurus, R, Rydberg, EH, Braun, C, Wang, Y, Nguyen, NT, Overall, CM, Withers, SG. Subsite Mapping of the Human Pancreatic Alpha-Amylase Active Site Through Structural, Kinetic, and Mutagenesis Techniques. *Biochemistry.* 2000; 39: 4778-4791.
31. Ramasubbu, N, Paloth, V, Luo, Y, Brayer, GD, Levine, MJ. Structure of Human Salivary Alpha-Amylase at 1.6 Å Resolution: Implications for Its Role in the Oral Cavity. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 1996; 52: 435-446.
32. Rydberg, EH, Li, C, Maurus, R, Overall, CM, Brayer, GD, Withers, SG. Mechanistic Analyses of Catalysis in Human Pancreatic Alpha-Amylase: Detailed Kinetic and Structural Studies of Mutants of Three Conserved Carboxylic Acids. *Biochemistry.* 2002; 41: 4492-4502.
33. Brunner, J, Wacker, H, Semenza, G. Sucrase-Isomaltase of the Small-Intestinal Brush Border Membrane: Assembly and Biosynthesis. *Methods Enzymol.* 1983; 96: 386-406.
34. Braun, H, Cogoli, A, Semenza, G. Dissociation of Small-Intestinal Sucrase - Isomaltase Complex into Enzymatically Active Subunits. *Eur J Biochem.* 1975; 52: 475-480.

35. Hunziker, W, Spiess, M, Semenza, G, Lodish, HF. The Sucrase-Isomaltase Complex: Primary Structure, Membrane-Orientation, and Evolution of a Stalked, Intrinsic Brush Border Protein. *Cell*. 1986; 46: 227-234.
36. Silberg, DG, Swain, GP, Suh, ER, Traber, PG. Cdx1 and Cdx2 Expression During Intestinal Development. *Gastroenterology*. 2000; 119: 961-971.
37. Boudreau, F, Rings, EH, van Wering, HM, Kim, RK, Swain, GP, Krasinski, SD, Moffett, J, Grand, RJ, Suh, ER, Traber, PG. Hepatocyte Nuclear Factor-1 Alpha, GATA-4, and Caudal Related Homeodomain Protein Cdx2 Interact Functionally to Modulate Intestinal Gene Transcription. Implication for the Developmental Regulation of the Sucrase-Isomaltase Gene. *J Biol Chem*. 2002; 277: 31909-31917.
38. Wu, GD, Chen, L, Forslund, K, Traber, PG. Hepatocyte Nuclear Factor-1 Alpha (HNF-1 Alpha) and HNF-1 Beta Regulate Transcription Via Two Elements in an Intestine-Specific Promoter. *J Biol Chem*. 1994; 269: 17080-17085.
39. Spodsberg, N, Alfalah, M, Naim, HY. Characteristics and Structural Requirements of Apical Sorting of the Rat Growth Hormone Through the O-Glycosylated Stalk Region of Intestinal Sucrase-Isomaltase. *J Biol Chem*. 2001; 276: 46597-46604.
40. Propsting, MJ, Jacob, R, Naim, HY. A Glutamine to Proline Exchange at Amino Acid Residue 1098 in Sucrase Causes a Temperature-Sensitive Arrest of Sucrase-Isomaltase in the Endoplasmic Reticulum and Cis-Golgi. *J Biol Chem*. 2003; 278: 16310-16314.
41. Spodsberg, N, Jacob, R, Alfalah, M, Zimmer, KP, Naim, HY. Molecular Basis of Aberrant Apical Protein Transport in an Intestinal Enzyme Disorder. *J Biol Chem*. 2001; 276: 23506-23510.
42. Nichols, BL, Eldering, J, Avery, S, Hahn, D, Quaroni, A, Sterchi, E. Human Small Intestinal Maltase-Glucoamylase cDNA Cloning. Homology to Sucrase-Isomaltase. *J Biol Chem*. 1998; 273: 3076-3081.
43. Nichols, BL, Avery, S, Sen, P, Swallow, DM, Hahn, D, Sterchi, E. The Maltase-Glucoamylase Gene: Common Ancestry to Sucrase-Isomaltase With Complementary Starch Digestion Activities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100: 1432-1437.
44. McDonald, MC, Henning, SJ. Synergistic Effects of Thyroxine and Dexamethasone on Enzyme Ontogeny in Rat Small Intestine. *Pediatr Res*. 1992; 32: 306-311.
45. Ben Ali, H, Guerin, JF, Pinatel, MC, Mathieu, C, Bouliou, D, Tritar, B. Relationship Between Semen Characteristics, Alpha-Glucosidase and the Capacity of Spermatozoa to Bind to the Human Zona Pellucida. *Int J Androl*. 1994; 17: 121-126.
46. Pereira, B, Sivakami, S. A Comparison of the Active Site of Maltase-Glucoamylase From the Brush Border of Rabbit Small Intestine and Kidney by Chemical Modification Studies. *Biochem J*. 1991; 274: 349-354.
47. Naumoff, DG. Structure and Evolution of the Mamalian Maltase-Glucoamylase and Sucrase-Isomaltase Genes. *Molecular Biology (Molekul-yarnaya Biologiya)*. 2007; 41: 962-973.
48. Sim, L, Quezada-Calvillo, R, Sterchi, EE, Nichols, BL, Rose, DR. Human Intestinal Maltase-Glucoamylase: Crystal Structure of the N-Terminal Catalytic Subunit and Basis of Inhibition and Substrate Specificity. *J Mol Biol*. 2008; 375: 782-792.
49. Kruse, TA, Bolund, L, Grzeschik, KH, Ropers, HH, Sjostrom, H, Noren, O, Mantei, N, Semenza, G. The Human Lactase-Phlorizin Hydrolase Gene Is Located on Chromosome 2. *FEBS-Lett*. 1988; 240: 123-126.

50. Semenza, G. Anchoring and Biosynthesis of Stalked Brush Border Membrane Proteins: Glycosidases and Peptidases of Enterocytes and Renal Tubuli. *Ann Rev Cell Biol.* 1986; 2: 255-313.
51. Naim, HY, Lentze, MJ. Impact of O-Glycosylation on the Function of Human Intestinal Lactase-Phlorizin Hydrolase. Characterization of Glycoforms Varying in Enzyme Activity and Localization of O-Glycoside Addition. *J Biol Chem.* 1992; 267: 25494-25504.
52. Jacob, R, Radebach, I, Wuthrich, M, Grunberg, J, Sterchi, EE, Naim, HY. Maturation of Human Intestinal Lactase-Phlorizin Hydrolase: Generation of the Brush Border Form of the Enzyme Involves at Least Two Proteolytic Cleavage Steps. *Eur J Biochem.* 1996; 236: 789-795.
53. Dudley, MA, Burrin, DG, Quaroni, A, Rosenberger, J, Cook, G, Nichols, BL, Reeds, PJ. Lactase Phlorizin Hydrolase Turnover in Vivo in Water-Fed and Colostrum-Fed Newborn Pigs. *Biochem J.* 1996; 320 (Pt 3): 735-743.
54. Burrin, DG, Stoll, B, Fan, MZ, Dudley, MA, Donovan, SM, Reeds, PJ. Oral IGF-I Alters the Post-translational Processing but Not the Activity of Lactase-Phlorizin Hydrolase in Formula-Fed Neonatal Pigs. *J Nutr.* 2001; 131: 2235-2241.
55. Shulman, RJ, Tivey, DR, Sunitha, I, Dudley, MA, Henning, SJ. Effect of Oral Insulin on Lactase Activity, mRNA, and Posttranscriptional Processing in the Newborn Pig. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1992; 14: 166-172.
56. Simon-Assmann, P, Lacroix, B, Kedinger, M, Haffen, K. Maturation of Brush Border Hydrolases in Human Fetal Intestine Maintained in Organ Culture. *Early Hum Dev.* 1986; 13: 65-74.
57. Mobassaleh, M, Montgomery, RK, Biller, JA, Grand, RJ. Development of Carbohydrate Absorption in the Fetus and Neonate. *Pediatrics.* 1985; 75: 160-166.
58. Wang, Y, Harvey, CB, Hollox, EJ, Phillips, AD, Poulter, M, Clay, P, Walker-Smith, JA, Swallow, DM. The Genetically Programmed Down-Regulation of Lactase in Children. *Gastroenterology.* 1998; 114: 1230-1236.
59. Duluc, I, Freund, JN, Leberquier, C, Kedinger, M. Fetal Endoderm Primarily Holds the Temporal and Positional Information Required for Mammalian Intestinal Development. *J Cell Biol.* 1994; 126: 211-221.
60. Kuokkanen, M, Enattah, NS, Oksanen, A, Savilahti, E, Orpana, A, Jarvela, I. Transcriptional Regulation of the Lactase-Phlorizin Hydrolase Gene by Polymorphisms Associated With Adult-Type Hypolactasia. *Gut.* 2003; 52: 647-652.
61. Troelsen, JT, Mitchelmore, C, Olsen, J. An Enhancer Activates the Pig Lactase Phlorizin Hydrolase Promoter in Intestinal Cells. *Gene.* 2003; 305: 101-111.
62. Troelsen, JT, Olsen, J, Noren, O, Sjostrom, H. A Novel Intestinal Trans-Factor (NF-LPH1) Interacts With the Lactase-Phlorizin Hydrolase Promoter and Co-Varies With the Enzymatic Activity. *J Biol Chem.* 1992; 267: 20407-20411.
63. Krasinski, SD, van Wering, HM, Tannemaat, MR, Grand, RJ. Differential Activation of Intestinal Gene Promoters: Functional Interactions Between GATA-5 and HNF-1 Alpha. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001; 281: G69-G84.
64. Chen, CC, Guo, WJ, Isselbacher, KJ. Rat Intestinal Trehalase. Studies of the Active Site. *Biochem J.* 1987; 247: 715-724.
65. Oesterreicher, TJ, Markesich, DC, Henning, SJ. Cloning, Characterization and Mapping of the Mouse Trehalase (Treh) Gene. *Gene.* 2001; 270: 211-220.

66. Ruf, J, Wacker, H, James, P, Maffia, M, Seiler, P, Galand, G, von Kieckebusch, A, Semenza, G, Matei, N. Rabbit Small Intestinal Trehalase. Purification, cDNA Cloning, Expression, and Verification of Glycosylphosphatidylinositol Anchoring [Published Erratum Appears in J Biol Chem 1990 Nov 15;265(1): 20051]. J Biol Chem. 1990; 265:15034-15039.
67. Toofanian, F. The Fetal and Postnatal Development of Small Intestinal Disaccharidases in the Rabbit. Lab Anim Sci. 1984; 34: 268-271.
68. Potier, M, Cousineau, J, Michaud, L, Zolinger, M, Melancon, SB, Dallaire, L. Fetal Intestinal Microvilli in Human Amniotic Fluid. Prenat Diagn. 1986; 6: 429-436.
69. Oesterreicher, TJ, Nanthakumar, NN, Winston, JH, Henning, SJ. Rat Trehalase: cDNA Cloning and mRNA Expression in Adult Rat Tissues and During Intestinal Ontogeny. Am J Physiol. 1998; 274: R1220-R1227.
70. Wright, EM, Hirsch, JR, Loo, DD, Zampighi, GA. Regulation of Na⁺/Glucose Cotransporters. J Exp Biol. 1997; 200 (Pt 2): 287-293.
71. Wright, EM, Martin, MG, Turk, E. Intestinal Absorption in Health and Disease--Sugars. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2003; 17: 943-956.
72. Gouyon, F, Caillaud, L, Carriere, V, Klein, C, Dalet, V, Citadelle, D, Kellett, GL, Thorens, B, Leturque, A, Brot-Laroche, E. Simple-Sugar Meals Target GLUT2 at Enterocyte Apical Membranes to Improve Sugar Absorption: a Study in GLUT2-Null Mice. J Physiol. 2003; 552: 823-832.
73. Blakemore, SJ, Aledo, JC, James, J, Campbell, FC, Lucocq, JM, Hundal, HS. The GLUT5 Hexose Transporter Is Also Localized to the Basolateral Membrane of the Human Jejunum. Biochem J. 1995; 309 (Pt 1): 7-12.
74. Corpe, CP, Burant, CF. Hexose Transporter Expression in Rat Small Intestine: Effect of Diet on Diurnal Variations. Am J Physiol. 1996; 271: G211-G216.
75. Shu, R, David, ES, Ferraris, RP. Dietary Fructose Enhances Intestinal Fructose Transport and GLUT5 Expression in Weaning Rats. Am J Physiol. 1997; 272: G446-G453.
76. Wright, EM, Loo, DD, Hirayama, BA, Turk, E. Surprising Versatility of Na⁺-Glucose Cotransporters: SLC5. Physiology (Bethesda). 2004; 19: 370-376.
77. Gouyon, F, Onesto, C, Dalet, V, Pages, G, Leturque, A, Brot-Laroche, E. Fructose Modulates GLUT5 mRNA Stability in Differentiated Caco-2 Cells: Role of cAMP-Signalling Pathway and PABP (Polyadenylated-Binding Protein)-Interacting Protein (Paip) 2. Biochem J. 2003; 375: 167-174.
78. Mathews, CK, van Holde, KE. Metabolismo De Los Hidratos De Carbono I. Procesos Anaerobios En La Generación De Energía Metabólica. In: Bioquímica. Mathews, CK, van Holde, KE. Editores. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 1998; 494-530.
79. Mathews, CK, van Holde, KE. Metabolismo De Los Hidratos De Carbono II. Biosíntesis. In: Bioquímica. Mathews, CK, van Holde, KE. Editores. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 1998; 613-649.
80. Mahler, HR, Cordes, EH. El Metabolismo De Los Hidratos De Carbono. In: Química Biológica. Mahler, HR, Cordes, EH. Editores. Barcelona: Omega. 1971; 424-497.
81. Topping, DL, Clifton, PM. Short-Chain Fatty Acids and Human Colonic Function: Roles of Resistant Starch and Nonstarch Polysaccharides. Physiol Rev. 2001; 81: 1031-1064.

82. Gudmand-Hoyer, E, Jarnum, S. Lactose Malabsorption in Greenland Eskimos. *Acta Med Scand.* 1969; 186: 235-237.
83. Kretchmer, N. Weaning: Enzymatic Adaptation. *Am J Clin Nutr.* 1985; 41:391-398.
84. Jacob, R, Zimmer, KP, Schmitz, J, Naim, HY. Congenital Sucrase-Isomaltase Deficiency Arising From Cleavage and Secretion of a Mutant Form of the Enzyme. *J Clin Invest.* 2000; 106: 281-287.
85. Lebenthal, E, Khin, MU, Zheng, BY, Lu, RB, Lerner, A. Small Intestinal Glucoamylase Deficiency and Starch Malabsorption: a Newly Recognized Alpha-Glucosidase Deficiency in Children. *J Pediatr.* 1994; 124: 541-546.
86. Nichols, BL, Avery, SE, Karnsakul, W, Jahoor, F, Sen, P, Swallow, DM, Luginbuehl, U, Hahn, D, Sterchi, EE. Congenital Maltase-Glucoamylase Deficiency Associated With Lactase and Sucrase Deficiencies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002; 35: 573-579.
87. Quezada-Calvillo, R, Senchyna, M, Underdown, BJ. Characterization of Intestinal Gamma-Glucoamylase Deficiency in CBA/Ca Mice. *Am J Physiol.* 1993; 265: G1150-G1157.
88. Gudmand-Hoyer, E, Fenger, HJ, Skovbjerg, H, Kern-Hansen, P, Madsen, PR. Trehalase Deficiency in Greenland. *Scand J Gastroenterol.* 1988; 23: 775-778.
89. Arola, H, Koivula, T, Karvonen, AL, Jokela, H, Ahola, T, Isokoski, M. Low Trehalase Activity Is Associated With Abdominal Symptoms Caused by Edible Mushrooms. *Scand J Gastroenterol.* 1999; 34: 898-903.
90. Brown, GK. Glucose Transporters: Structure, Function and Consequences of Deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 2000; 23: 237-246.
91. Horvath, K, Horn, G, Bodanszky, H, Toth, K, Vardi, S. Disaccharidases in Coeliac Disease. *Acta Paediatr Hung.* 1983; 24: 131-136.
92. Lim, SG, Menzies, IS, Nukajam, WS, Lee, CA, Johnson, MA, Pounder, RE. Intestinal Disaccharidase Activity in Human Immunodeficiency Virus Disease. *Scand J Gastroenterol.* 1995; 30: 235-241.
93. Ben, XM. Nutritional Management of Newborn Infants: Practical Guidelines. *World J Gastroenterol.* 2008; 14: 6133-6139.
94. Jambunathan, LR, Neuhoff, D, Younoszai, MK. Intestinal Disaccharidases in Malnourished Infant Rats. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34: 1879-1884.
95. Belosevic, M, Faubert, GM, Maclean, JD. Disaccharidase Activity in the Small Intestine of Gerbils (*Meriones Unguiculatus*) During Primary and Challenge Infections With *Giardia Lamblia*. *Gut.* 1989; 30: 1213-1219.
96. Jones, DG. Intestinal Enzyme Activity in Lambs Chronically Infected With *Trichostrongylus Colubriformis*: Effect of Anthelmintic Treatment. *Vet Parasitol.* 1983; 12:7 9-89.
97. Chitra, Sun, P, Mahmood, S. Effect of Salmonella Typhimurium Toxin on the Expression of Rabbit Intestinal Functions. *Indian J Med Res.* 2002; 116: 186-191.
98. Jourdan, N, Brunet, JP, Sapin, C, Blais, A, Cotte-Laffitte, J, Forestier, F, Quero, AM, Trugnan, G, Servin, AL. Rotavirus Infection Reduces Sucrase-Isomaltase Expression in Human Intestinal Epithelial Cells by Perturbing Protein Targeting and Organization of Microvillar Cytoskeleton. *J Virol.* 1998; 72: 7228-7236.
99. Nahas, GG, Sutin, KM, Fermon, C, Streat, S, Wiklund, L, Wahlander, S, Yellin, P, Brasch, H, Kanchuger, M, Capan, L, Manne, J, Helwig, H,

- Gaab, M, Pfenninger, E, Wetterberg, T, Holmdahl, M, Turndorf, H. Guidelines for the Treatment of Acidaemia With THAM. *Drugs*. 1998; 55: 191-224.
100. Dahlqvist, A. Assay of Intestinal Disaccharidases. *Scand J Clin Lab Invest*. 1984; 44: 169-172.
101. Clissold, SP, Edwards, C. Acarbose. A Preliminary Review of Its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Potential. *Drugs*. 1988; 35: 214-243.
102. Lin, MY, DiPalma, JA, Martini, MC, Gross, CJ, Harlander, SK, Savaiano, DA. Comparative Effects of Exogenous Lactase (Beta-Galactosidase) Preparations on in Vivo Lactose Digestion. *Dig Dis Sci*. 1993; 38: 2022-2027.
103. Treem, WR, Ahsan, N, Sullivan, B, Rossi, T, Holmes, R, Fitzgerald, J, Proujansky, R, Hyams, J. Evaluation of Liquid Yeast-Derived Sucrase Enzyme Replacement in Patients With Sucrase-Isomaltase Deficiency. *Gastroenterology*. 1993; 105: 1061-1068.

Digestión y absorción de los lípidos

Martin Gotteland, Óscar Brunser

Los lípidos son aquellos compuestos de la dieta que pueden ser extraídos por solventes orgánicos; incluyen principalmente a lípidos no-polares como los triglicéridos (TG) y a lípidos polares como los fosfolípidos (FL). Las recomendaciones dietéticas indican que los lípidos deberían representar alrededor del 30% del aporte energético total del individuo, lo cual corresponde a aportes diarios de 90-105g y de 68-85g para un hombre y una mujer adultos, respectivamente. Los TG representan la mayoría de la grasa de la dieta mientras que los aportes de FL (1-2g/d), colesterol (CS, 0.3-0.4g/d) y vitaminas liposolubles (A, D, E) son menores. Cabe destacar sin embargo, que cada día llega también al intestino una cierta cantidad de lípidos de origen endógeno a través de la secreción biliar, la descamación de las células epiteliales y de bacterias muertas provenientes de la microbiota; representan alrededor de 1-2 g/d de CS y 20 g/d de FL, es decir, mucho más que los aportes dietarios de estos lípidos. La digestión y absorción de los lípidos es un proceso eficiente que ocurre en el intestino delgado: duodeno y yeyuno proximal; más del 95% de los TG y más del 60% del CS aportados por la dieta son absorbidos, de tal manera que finalmente, el organismo excreta por las deposiciones sólo 2 a 5 g de lípidos por día. Debido a su naturaleza hidrofóbica, los lípidos son poco solubles en el medio acuoso intraluminal. El problema de la absorción de lípidos es transformar un nutriente insoluble en agua que está presente en partículas (gotas de emulsión) en una forma hidromiscible que pueda llegar a la superficie del epitelio para ser absorbida. Por esta razón, los mecanismos asociados a su digestión y absorción difieren de aquellos de los demás macronutrientes.

Digestión luminal de los lípidos

a) Fase gástrica

La digestión de los lípidos es un proceso intraluminal que empieza por la acción de las lipasas ácidas, lingual y gástrica. La lipasa lingual funciona en un rango de pH de 4.5 a 5.4 por lo cual puede seguir funcionando en el estómago, mientras que la lipasa gástrica, liberada por las células principales del fondo gástrico, funciona en un rango de pH de 3 a 6 por lo cual también puede seguir funcional cuando llega al duodeno, hasta que el pH ácido del quimo gástrico es neutralizado por la secreción de bicarbonato del páncreas, o hasta que esta enzima es degradada por la tripsina. La lipasa gástrica hidroliza con mayor velocidad los TG con ácidos grasos (AG) de cadena media que aquellos con AG de cadena larga. Actúa preferentemente en el carbono 3 de los TG, liberando diacilglicerol (DG) y ácidos grasos libres (AGL) que ejercen un papel estabilizador de la emulsión lipídica en el duodeno.

La emulsificación de los lípidos se inicia en el estómago gracias a la motricidad gástrica, que permite la mezcla y molienda de los alimentos; este proceso resulta en la dispersión de los lípidos en gotitas de grasas de un diámetro inferior a 0,5 mm. Se considera que las lipasas ácidas dan cuenta de la digestión del 10 al 30% de los TG. Su actividad es particularmente importante en los sujetos con insuficiencia pancreática (debida a fibrosis quística, por ejemplo), y también en el lactante para digerir los TG de la leche materna, debido a que la secreción de la lipasa pancreática es inmadura en el período neonatal.

Finalmente cabe recordar que la densidad energética del contenido gástrico (es decir principalmente el contenido en grasa del alimento) es el principal factor que determina la velocidad del vaciamiento gástrico y la llegada del quimo al duodeno.

b) Fase duodenal

El duodeno es el lugar donde se encuentran tres flujos líquidos: el quimo gástrico, el jugo pancreático y la secreción biliar, cuya mezcla es crucial para determinar la adecuada digestión de los lípidos. Dicha mezcla modifica en forma importante la relación entre la fase acuosa y los componentes lipídicos presentes en el lumen; se considera que existe un equilibrio dinámico o “continuum” entre la hidrólisis de la fase oleosa (emulsión), la incorporación de los productos de hidrólisis a las micelas de sales biliares (SB) y su difusión hacia el epitelio y absorción.

Secreción biliar

La secreción biliar es estimulada por la secretina y por la colecistoquinina que produce la contracción de la vesícula biliar. Se secreta alrededor de 750ml de bilis por día; es un líquido isotónico con el plasma que contiene bilirrubina, lecitina (fosfatidilcolina), colesterol y SB. Los ácidos biliares, cólico y quenodesoxicólico, pueden ser transformados por las bacterias intestinales en ácidos biliares secundarios, litocólico y desoxicólico, siendo este último fácilmente reabsorbido a nivel ileal por lo cual también puede ser encontrado en la bilis. El ácido cólico y el quenodesoxicólico representan cada uno el 40% de los ácidos biliares, en tanto que el desoxicólico representa el 20% del pool total de ácidos biliares. Dichos ácidos se conjugan con los aminoácidos glicina y taurina para formar las SB conjugadas, proceso que aumenta su hidrofilia (Figura 1). La concentración de sales biliares en el duodeno es elevada en los primeros 30 minutos que siguen a la ingestión de la comida, debido a la contracción inicial de la vesícula biliar que descarga su contenido en el lumen, y luego disminuye y se estabiliza. Más del 90% de

las SB se reabsorben en el íleon terminal gracias a la presencia de un transportador activo dependiente de Na^+ , ISBT (Ileal Bile Salt Transporter) luego pasan a la circulación, son captadas por el hígado y excretadas de nuevo en la bilis. Existe por lo tanto un gradiente próximo-distal de SB en el intestino, con concentraciones que van de 8-10mM en el yeyuno, hasta 0,9-2mM en el íleon distal. El ciclo entero-hepático de las SB (Figura 2) se realiza dos a tres veces en el curso de la digestión de una comida, es decir seis a diez veces por día. Si bien el pool total de SB es pequeño (2-4g), su reciclaje rápido explica que su excreción a nivel duodenal sea alta, de 12 a 40g por día; dicha secreción no es continua a lo largo del día, sino que tiene lugar en relación con las comidas. La vida media de las SB es de dos a cuatro días; las pérdidas de SB son compensadas por la síntesis *de novo* de 0,6g por día que representa entre el 15 y el 30% del pool total.

Digestión de los triglicéridos

Cuando llega al duodeno, la emulsión lipídica debe ser estabilizada para evitar su coalescencia, es decir, la fusión de las gotas de grasa y la formación de una capa oleosa. Esta estabilización es llevada a cabo por los FL y sobre todo por las SB aportadas por la bilis. Las SB son moléculas anfipáticas (es decir que tienen regiones hidrofílicas e hidrofóbicas) y planas que actúan como detergentes, formando una película en la superficie de las gotas de grasa (Figura 3). Además de estabilizar la emulsión, las SB también fragmentan las gotitas de grasa reduciendo su tamaño (0,2–2 μm de diámetro) y aumentando aún más la superficie disponible para la acción de la lipasa. Sin embargo, la presencia de las SB impide la unión de la lipasa con la interface agua/lípido de la emulsión, y además inhibe su acción lipolítica. Dicha inhibición es suprimida por la presencia de la colipasa, que desplaza a las SB de la superficie de las gotas permitiendo la fijación de la lipasa y el inicio de la hidrólisis de los TG presentes. La colipasa es un péptido liberado en el jugo pancreático como proenzi-

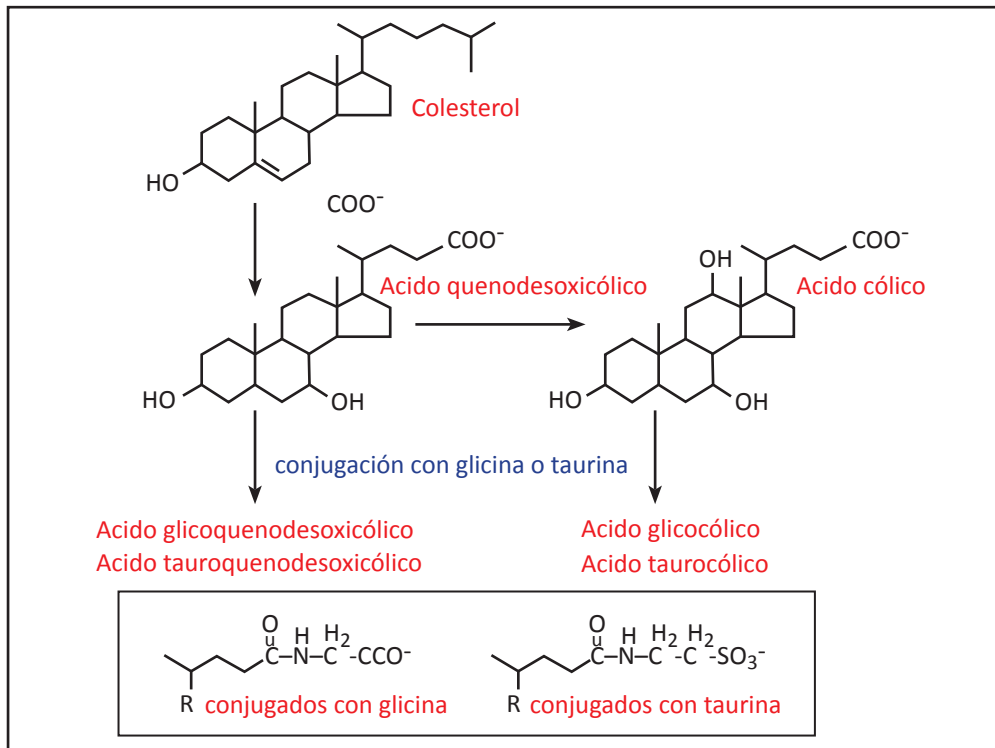


Figura 1. Estructura de los ácidos y sales biliares.

ma inactiva; requiere de la acción proteolítica de la tripsina para ser activada. La lipasa pancreática es secretada en forma activa; se libera en exceso en el lumen al inicio de la comida y actúa en los enlaces 1 y 3 de los TG, liberando AGL y 2-monoacilglicerol. La hidrólisis del AG en posición 2 es muy lenta debido a que el sitio activo de la lipasa no llega hasta dicho enlace. Por otra parte, la isomerización espontánea del 2-MG con el cambio del AG hacia las posiciones 1 o 3 es también muy lenta. Sin embargo, la lipasa se degrada rápidamente en el lumen y se estima que el 92% de esta enzima desaparece en el yeyuno, por lo cual su concentración en el íleon es baja. Cabe destacar que los AG de cadena larga liberados durante la lipólisis, pueden reaccionar con los cationes divalentes (principalmente Ca^{++}) presentes en el lumen, formando jabones insolubles que no se absorben y llegan al colon. Por el contrario, los AG

de cadena media tienden a reaccionar con cationes monovalentes (Na^+ , K^+), generando productos que permanecen solubles en el lumen y pueden ser absorbidos.

Digestión de los fosfolípidos

Los FL son hidrolizados en el lumen intestinal principalmente por la fosfolipasa A2, una enzima pancreática liberada como una proenzima inactiva que es activada por acción de la tripsina. La fosfolipasa A2 hidroliza los FL (mayormente fosfatidil-colina), liberando el AG en posición 2 y con formación de liso-FL. Como se vio anteriormente, los FL presentes en el lumen intestinal provienen principalmente de la secreción biliar y están asociados con las micelas mixtas de SB; los FL aportados por la dieta representan una cantidad menor que los de la bilis y se

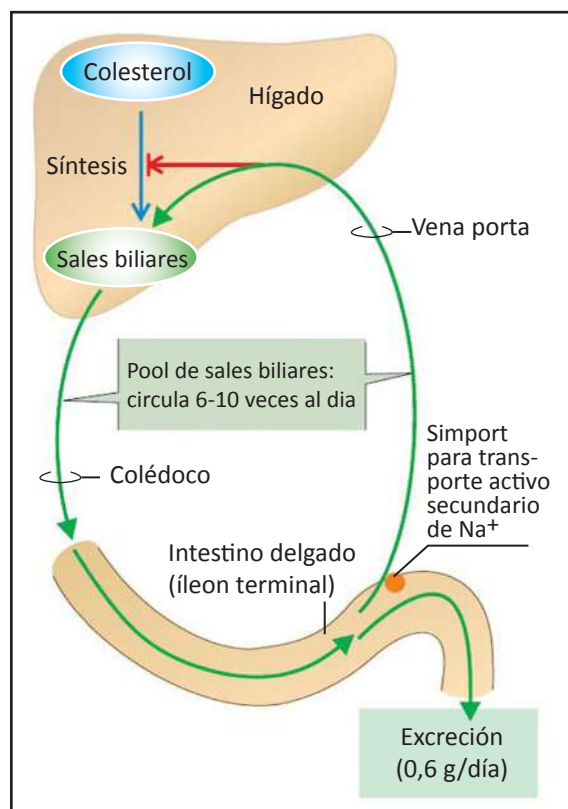


Figura 2. Ciclo entero-hepático de las sales biliares.

encuentran en la interfase agua/lípido de la emulsión lipídica, donde adhieren fuertemente a la superficie de las gotas de grasa e impiden la fijación de la colipasa. Por lo tanto, la actividad de la fosfolipasa A2 es importante para la iniciación del proceso de digestión, ya que hidroliza los FL de la superficie de la emulsión, liberando liso-FL y facilitando la fijación de la colipasa. La fosfolipasa A2 también hidroliza los FL presentes en las micelas mixtas.

Digestión de los ésteres de colesterol; otras lipasas

Además de las lipasas gástrica y pancreática y de la fosfolipasa A2, existen otras lipasas que funcionan sólo en presencia de SB, cuando éstas se encuentran

en concentraciones inferiores a la concentración micelar crítica. Se trata principalmente de la lipasa de la leche materna estimulada por SB (BSSL) y de la colesterol esterasa. La primera se encuentra en la leche materna y está ausente en la leche de vaca; es estable a pH ácido e hidroliza tanto los TG como a las vitaminas liposolubles esterificadas. Su presencia puede compensar la baja actividad de la lipasa pancreática observada en el recién nacido, en particular cuando es prematuro. La colesterol esterasa es también llamada lipasa dependiente de las SB o carboxyl éster hidrolasa. La forma activa de la enzima es polimérica y este proceso de polimerización es activado por las SB. La colesterol esterasa tiene un amplio rango de sustratos (TG, MG, vitaminas liposolubles esterificadas, esfingolípidos) incluyendo a los ésteres de CS (los cuales representan el 10-15% del CS total de la dieta) presente en la emulsión lipídica. El CS presente en las micelas mixtas secretadas por la bilis ésta principalmente en forma no-esterificada.

Formación de las micelas

Cuando están en bajas concentraciones en soluciones acuosas, las SB existen como monómeros pero se agregan para formar micelas de pequeño tamaño (3-20nm) cuando su concentración aumenta por encima de un límite denominado "concentración micelar crítica" (~2,5mM). En la bilis, las SB se encuentran asociadas con FL y CS y tienden a formar micelas mixtas discoidales. Los AG de cadena larga, liso-FL, CS, vitaminas, MG y glicerol resultantes de la digestión enzimática de los lípidos de la dieta, se incorporan a las micelas mixtas presentes en el lumen, las cuales aumentan su tamaño y adoptan forma esférica y se denominan micelas expandidas. En efecto, estos compuestos liposolubles no pueden difundir por sí solos en forma eficiente a través de la capa de agua no agitada, hidrofílica, que está en contacto con el epitelio intestinal (Figura 3). Las micelas mixtas, ricas en SB que actúan como detergente, favorecen la difusión hacia la superficie del epitelio duodeno-yeyunal, donde son liberados en contacto con la membrana plasmática del ribete es-

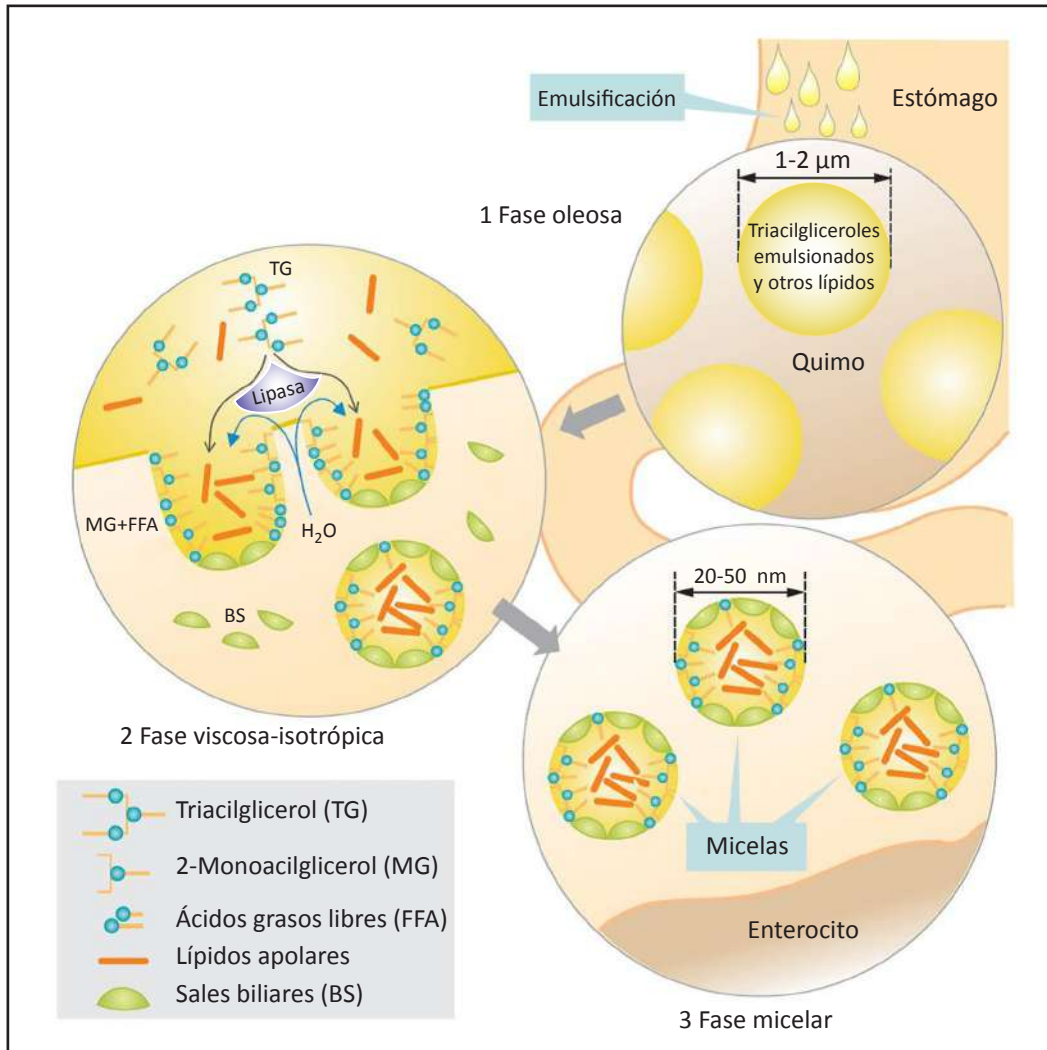


Figura 3. Digestión de los triglicéridos en el lumen del intestino delgado y formación de las micelas.

triado. Los AG de cadena media que son más hidrofílicos, no requieren ser incorporados a las micelas para atravesar la capa de agua no agitada. Por otra parte, cuando la concentración de los productos de digestión es alta en la fase acuosa, mientras la concentración de SB permanece baja, se forman vesículas líquidas cristalinas (liposomas), de 40 a 60nm de diámetro, que podrían jugar un papel importante

en la absorción de AG de cadena larga y MG por el enterocito en los pacientes con deficiencias de SB. Finalmente, a medida que las micelas liberan los productos de la digestión en la superficie del epitelio, su estructura se desorganiza y las SB permanecen en el lumen intestinal donde son reutilizadas para reformar otras micelas. Este proceso se repite hasta que las SB llegan al íleon terminal donde son reabsorbidas.

Absorción intestinal de los lípidos

a) Transporte apical de los ácidos grasos de cadena larga (Figura 4)

En el período postprandial, las concentraciones de AG y MG en la proximidad del ribete estriado llegan a 50mM y son mayores que las concentraciones intracelulares. Este gradiente de concentración favorece la entrada de estas moléculas al enterocito mediante difusión pasiva. Sin embargo, estudios con linoleato indican que cuando las concentraciones extracelulares de este AG son bajas, es transportado al citoplasma del enterocito por un sistema de transporte activo dependiente del gradiente de Na⁺. Uno de los potenciales candidatos para actuar como transportador de AG de cadena larga en la membrana apical del enterocito es el CD36. Se trata de un complejo proteico que incluye una proteína transmembranosa de unión a AG y otra citosólica (FABPpm y FABPc, respectivamente). La FABPpm se uniría en forma reversible al AG de cadena larga a nivel extracelular, atrayéndolo a la vecindad de la membrana apical, la cual atravesaría por simple difusión o gracias a proteínas como FAT-4 (Fatty Acid Transporter-4). El AG sería luego removido por la FABPc. R ratones knock-out para CD36 absorben menos AG en el yeyuno; además, la expresión de CD36 aumenta en el intestino de los animales alimentados con una dieta hipergrasa. El estado fosforilado/no fosforilado de CD36 es un factor crítico para determinar su actividad de transporte de AG; dicho estado podría ser regulado por la fosfatasa alcalina intestinal.

b) Transporte apical del colesterol

El transporte de CS al enterocito es un proceso complejo que aún no está completamente aclarado. En términos generales, hay que diferenciar entre “captación intestinal de CS” y “absorción intestinal de CS”. El primer concepto se refiere a la cantidad de CS libre que entra al enterocito y el segundo a la cantidad de CS esterificado que se exporta al sistema linfático en los quilomicrones. Ambas cantidades no son iguales debido a que no todo el CS libre que

entra es reesterificado en el enterocito y que la parte no reesterificada es secretada de vuelta al lumen por un sistema de transporte reverso.

A pesar de que el CS pueda entrar al enterocito por difusión pasiva dependiente de su gradiente de concentración, la mayor parte penetra mediante un mecanismo de difusión facilitada gracias a un transportador específico presente en el ribete estriado. Varias proteínas como CD36, APN (aminopeptidasa N) o SR-BI (Scavenger Receptor Class B Type 1), han sido propuestas como potenciales candidatas para el transporte de CS al enterocito. La candidata más probable, sin embargo, ha sido identificada como la Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1), que se expresa principalmente en el intestino, y más específicamente en el yeyuno proximal, lugar donde ocurre la absorción de esteroides (tanto de origen animal como vegetal). Este transportador está ubicado en microdominios Raft de la membrana apical, en asociación con otras proteínas como caveolina-1 y anexina-2 que forman heterocomplejos implicados en la modulación de NPC1L1 y la captación de CS. La identificación de NPC1L1 en los enterocitos fue facilitada por el descubrimiento del ezetimibe, un inhibidor de la absorción intestinal de CS, que se une a NPC1L1 e inhibe su actividad. Un elemento regulador de esteroides en la región promotora del gen del transportador y la presencia de un dominio sensible a esteroides (sterol sensing domain) en su proteína, parecen estar involucradas en la regulación de la absorción de CS en respuesta a su ingesta en la dieta. La expresión de NPC1L1 es mayor cuando la dieta es pobre en CS y por el contrario disminuye en el caso de dietas ricas en CS. La mayoría de NPC1L1 se encuentra en vesículas intracelulares; el consumo de una dieta pobre en CS induce la translocación de dichas vesículas hacia la membrana apical.

Por otra parte, el heterodímero de los “ATP binding cassette transporters” G5 y G8 (ABCG5/ABCG8) está involucrado en el transporte reverso de esteroides (CS y FS) no esterificados desde el enterocito hacia el lumen intestinal, es decir, en dirección opuesta a la de NPC1L1. Se han identificado mutaciones de los genes que codifican ABCG5/G8 en pacientes

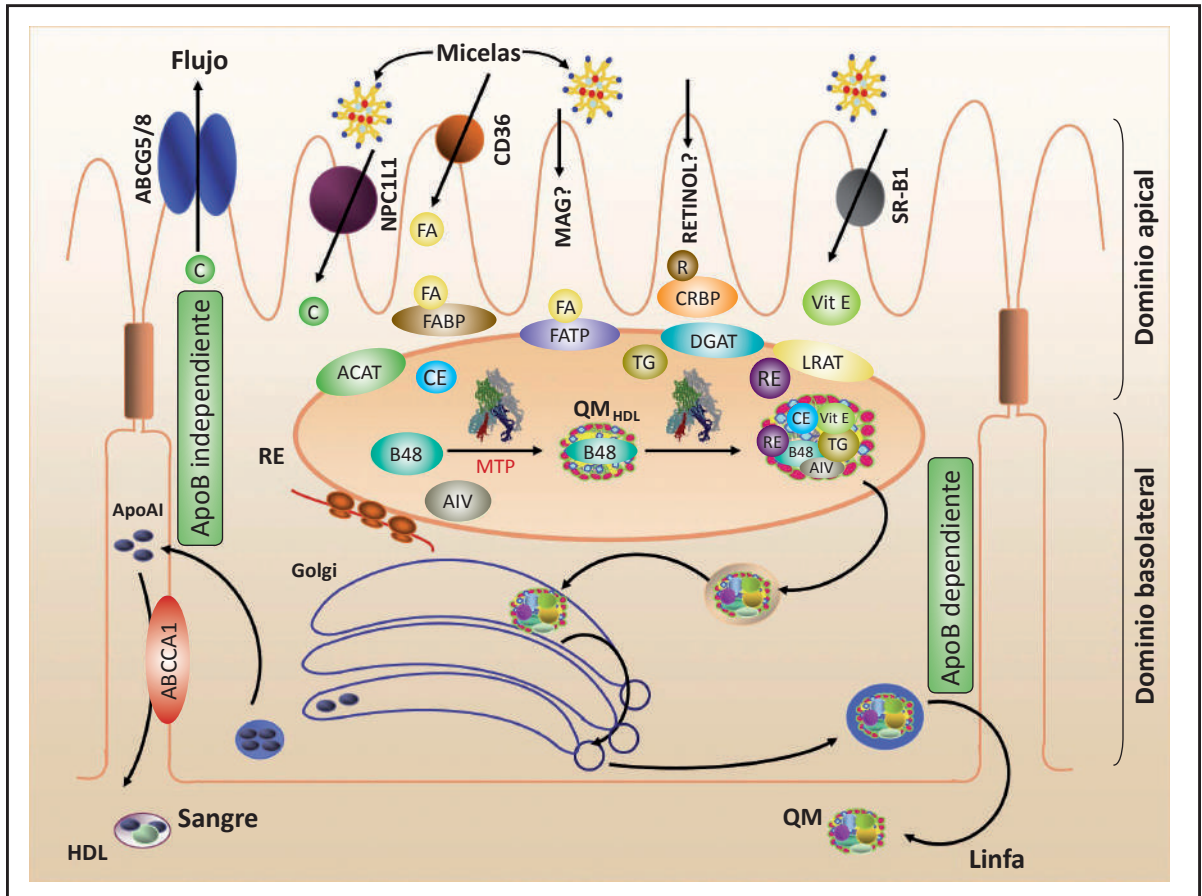


Figura 4. Absorción intestinal de los ácidos grasos y el colesterol. Los productos de la digestión de los lípidos de la dieta están solubilizados en el lumen intestinal en las micelas y llegan con ellas a la superficie del epitelio intestinal. La membrana apical del enterocito expresa varios transportadores que permiten la captación del colesterol (Niemann-Pick C1 like 1, NPC1L1), los ácidos grasos de cadena larga (CD36 y Fatty Acid Transport Protein, FATP) y vitamina E (Scavenger Receptor class B type I, SR-B1). En el citosol de los enterocitos, las proteínas de unión (FABP, SCP, CRBP) transportan los ácidos grasos, el colesterol y el retinol hacia el retículo endoplásmico (ER), donde se produce su reesterificación con glicerol o con 2-monoglicérido procedente del lumen intestinal (MAG) hasta formar triglicéridos (TG) mediante la acción de enzimas como la Acil-CoA aciltransferasa (ACAT2) y las diacilglicerol y monoacilglicerol aciltransferasas (DGAT y MGAT) y la lecitina:retinol aciltransferasa (LRAT). Los productos esterificados son incorporados a quilomicrones junto con la apolipoproteína-48 (ApoB-48) gracias a la proteína transportadora microsomal (Microsomal Transport Protein, MTP). Los pre-quilomicrones son transportados al aparato de Golgi y a continuación son secretados a través de la membrana basolateral hacia el corion de la mucosa y el sistema linfático. Los enterocitos expresan además a nivel apical el transportador ABCG5/G8, que permite el transporte reverso de CS hacia el lumen intestinal y a nivel de su membrana basolateral el transportador ABCA1, que permite la secreción de CS junto con las HDL hacia el compartimento basolateral. Colesterol libre (CS); éster de retinol (RE); éster de colesterol (CE); apolipoproteína A-IV (AIV); lipoproteína de alta densidad (HDL) proteína ligante de ácidos grasos (Fatty acid binding proteína, FABP); proteína celular ligante de retinol (cellular retinol binding protein, CRBP); proteína ligante de colesterol esterificado (sterified cholesterol-binding protein, SCP).

con β -sitosterolemia. La expresión de ABCG5/G8 en respuesta a una dieta hipercolesterolémica está regulada por el Liver-X-Receptor- α (LXR α). ABCG5/G8 existe también en el hígado donde promueve la secreción de CS biliar. NPC1L1 y ABCG5/G8 regulan en forma coordinada la cantidad de CS que llega al sistema linfático.

c) Transporte, reesterificación y formación de quilomicrones en el enterocito

En el citoplasma, los AG de cadena larga y el CS se unen a proteínas de unión (Fatty Acid Binding Protein, FABP y Sterol Carrier Protein, SCP) que los trans-

portan hasta el retículo endoplásmico. En los enterocitos se han descrito dos isoformas de la FABP: la FABP intestinal [I-FABP], que transporta sólo AG y la hepática [L-FABP], que transporta un amplio rango de sustratos como AG, liso-FL, MG, vitamina A, bilirrubina etc. El SCP también existe como dos isoformas, 1 y 2; el SCP-2 está involucrado en el transporte intracelular de CS en el enterocito. En la membrana del retículo endoplásmico, los AG son activados a acil-CoA por la acil-CoA sintetasa y luego reesterificados hasta reconstituir TG y ésteres de CS (Figuras 5, 6 y 7). Este proceso permite mantener bajas concentraciones intracelulares de AG y CS en el citoplas-

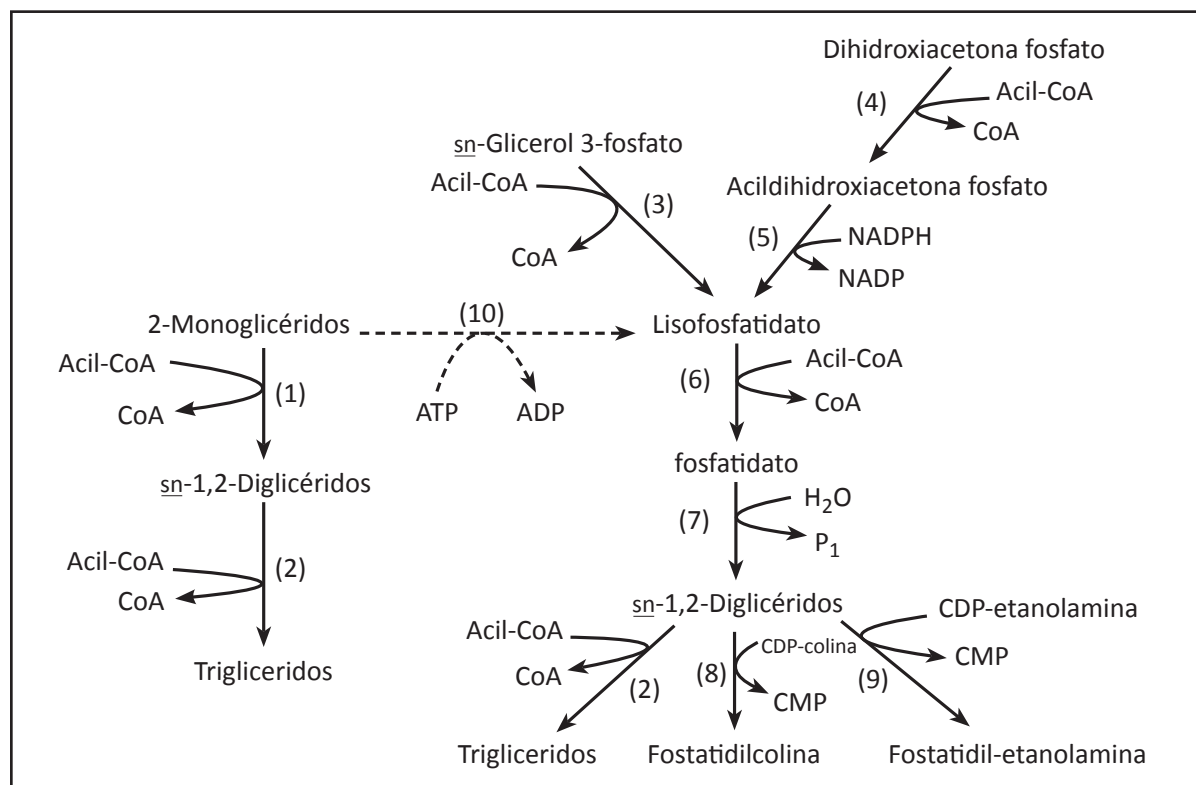


Figura 5. Enzimas que participan en la síntesis de glicéridos en la mucosa intestinal:

- | | |
|---|---|
| (1) Aciltransferasa de monoglicéridos | (6) Aciltransferasa del acilglicerolfosfato |
| (2) Aciltransferasa de diglicéridos | (7) Fosfohidrolasa del fosfatidato |
| (3) Aciltransferasa del sn-glicerol-3-fosfato | (8) CDP colina: 1,2-diglicérido colinafosfotransferasa |
| (4) Aciltransferasa del fosfato de dihidroxi acetona | (9) CDP-etanolamina: 1,2-diglicérido etanolamina fosfotransferasa |
| (5) Reductasa del fosfato de la acildihidroxi acetona | (10) Quinasa de monoglicéridos |

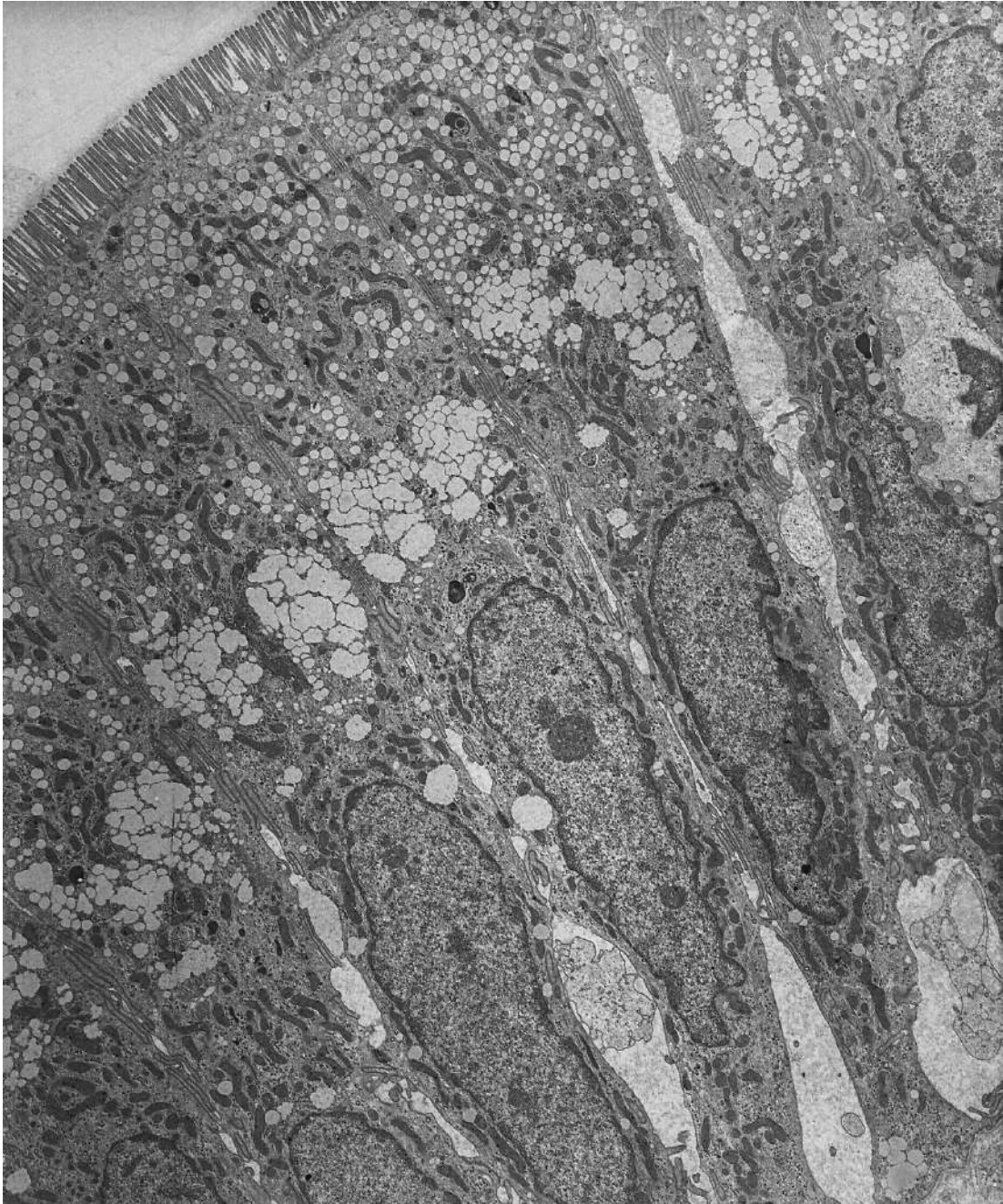


Figura 6. Vista a bajo aumento de enterocitos de un adulto 20 minutos después que recibió una emulsión de aceite de oliva por sonda nasoduodenal. Se observa la presencia de gotas de triglicéridos en el citoplasma supranuclear y sobre todo en el aparato de Golgi que está muy distendido. Casi no hay quilomicrones en el espacio intercelular del epitelio. (Intestino humano. x 7500).

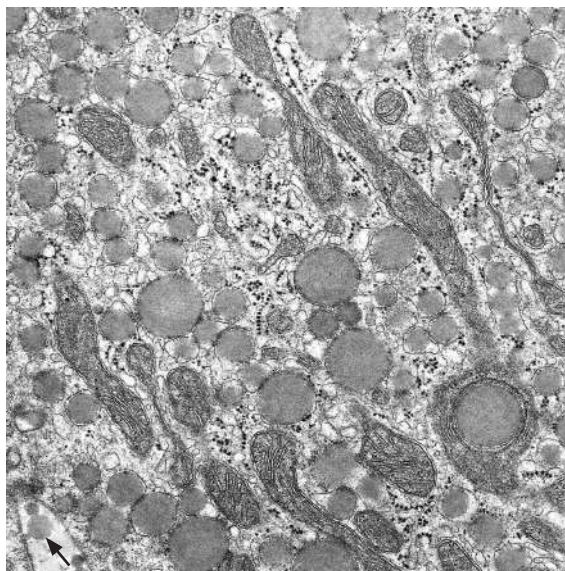


Figura 7. Gotas de lípidos en enterocito 30 minutos después de la instilación de una emulsión de aceite de oliva por sonda nasoduodenal. Las gotas están en el lumen de vesículas del retículo endoplásmico liso, tienen tamaño y densidad más o menos uniforme. Empiezan a aparecer quilomicrones en el espacio intercelular del epitelio (flecha). (Intestino humano. x 50.000).

ma, evitando su acumulación. La reesterificación se realiza mediante tres enzimas: la MG-aciltransferasa (MGAT), la DG-aciltransferasa (DGAT) y la ACAT-2 (Acil-CoA acil transferasa o esteroil aciltransferasa). Esta última es la isoforma de ACAT presente principalmente en el intestino. Estas enzimas transfieren un grupo acil-CoA al CS o al MG/DG, formando TG y ésteres de CS. Se estima que este proceso representa el 70% de la resíntesis de TG en el enterocito, mientras que el 30% restante utiliza 3-glicerofosfato sintetizado *de novo* a partir de glucosa. El 3-glicerofosfato también es utilizado para la resíntesis de FL. La deficiencia de ACAT-2 resulta en la acumulación de CS libre en el enterocito y en la disminución de la captación de CS por NPC1L1. La actividad de ACAT-2 es regulada por la concentración de sus sustratos y también, en forma negativa, por la acumulación de su producto en el retículo endoplásmico. La Microsomal Transfer Protein (MTP) transfiere los ésteres de CS y los TG a los quilomicrones nacientes, evi-

tando la acumulación de los productos terminales. Estudios *in vitro* en modelos de células intestinales y en ratones indican que existe también una secreción basolateral de CS libre, probablemente a través de un transportador de tipo ABCA1. Este transportador tendría un papel importante en la biogénesis de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), las cuales están asociadas con ApoA1, como lo sugieren las concentraciones circulantes de HDL en ratones knockout para ABCA1, 30% menores que las observadas en ratones no modificados (wild-type). En consecuencia, las HDLs podrían contribuir en forma importante a la absorción intestinal de CS.

El quilomicrón primario nace en el retículo endoplásmico por el agregado de FL a la apolipoproteína B48 (ApoB-48); esta partícula se expande a continuación mediante la incorporación de ésteres de CS, vitaminas E y A, y proteínas, principalmente ApoB-48, pero también en menor proporción ApoA-I, ApoA-IV y ApoC. El quilomicrón naciente está formado por un núcleo que contiene los TG, ésteres de CS y las vitaminas, y que es recubierto por una monocapa de FL, CS libre y Apo-B48 (que es fuertemente hidrofóbica) y Apo-AIV. El quilomicrón naciente aumenta de tamaño a medida que incorpora más lípidos en el núcleo, formando un prequilomicrón que luego es transportado por vesículas de transporte hacia el aparato de Golgi donde las apoproteínas son glicosiladas. El quilomicrón maduro (Figura 8) tiene un tamaño que varía entre 80 y 500nm y una densidad < 0.95g/ml; contiene alrededor de 86% de TG, 4% de CS, 8% FL y 2% de proteínas. Es liberado por exocitosis a través de la membrana basolateral del enterocito hacia el espacio intersticial del epitelio, desde donde migra al corion de la mucosa y al sistema linfático a través de brechas de la lamina basal y de aperturas del endotelio linfático (Figura 9). La presencia de ApoB48 es primordial para este proceso ya que en su ausencia (a-beta-lipoproteinemia) se observa una acumulación intraepitelial de TG. El enterocito también puede formar VLDL en un proceso similar al del quilomicrón; el tamaño de las VLDL es inferior al del quilomicrón (30 a 80nm), su densidad varía entre 0,95 y 1,006g/ml y su composición lipí-

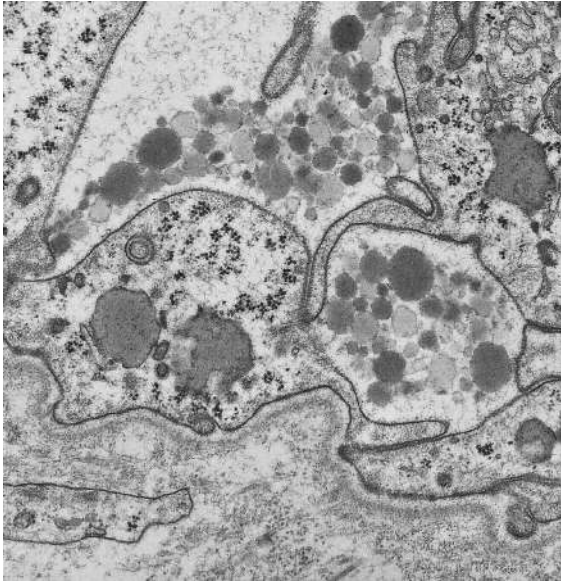


Figura 8. Quilomicrones en el espacio intercelular del epitelio intestinal, por encima de la lámina basal. Los quilomicrones tienen distintas densidades y tamaños, siendo más densos los más voluminosos, que miden hasta 300 micrones de diámetro. (Intestino humano. x 27.000).

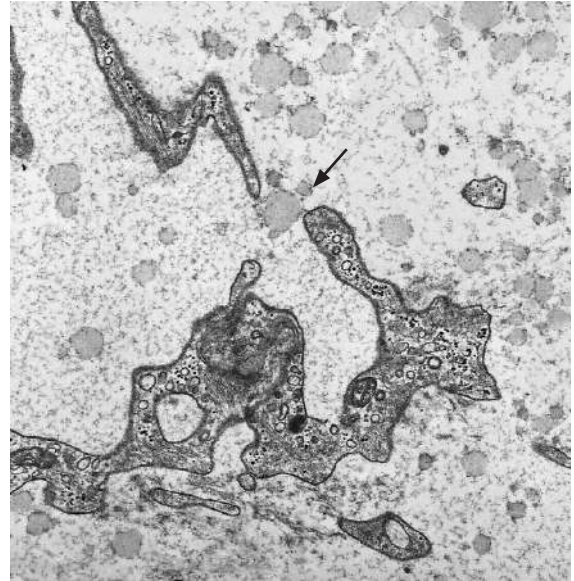


Figura 9. Quilomicrones en el corion de la mucosa una hora después de la instilación de una emulsión de aceite de oliva por sonda nasoduodenal. Los quilomicrones están penetrando a un capilar linfático cuya unión intercelular se ha abierto para permitir el paso de las partículas (flecha). (Intestino humano. x 17.000).

dica también es diferente (~ 60% TG, 15% CS, 15% FL y 10% proteína). No se sabe con exactitud si los procesos de formación y secreción de ambas lipoproteínas son independientes uno de otro (Figuras 10 y 11).

Digestión y absorción de los triglicéridos con AG de cadena media

Los procesos de digestión y absorción de los TG con AG de cadena media (entre 6 y 14 átomos de carbonos) difieren de aquellos de los TG con AG de cadena larga. Debido a su menor grado de hidrofobicidad, los TG con AG de cadena media, no requieren ser emulsionados para que las lipasas puedan hidrolizarlos. Los AG de cadena media resultantes del proceso de lipólisis no se incorporan a las micelas y, *per se*, pueden difundir a través de la capa de agua no agitada hasta alcanzar la superficie del epitelio. Una vez en el enterocito, estos AG no son activados por

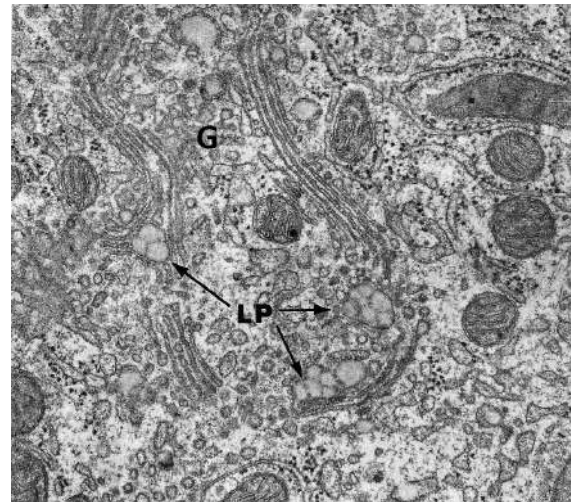


Figura 10. El aparato de Golgi incluye vesículas que contienen acumulos de partículas de lipoproteínas de muy baja densidad. Intestino humano, ayuno de 6 horas. Las más grandes miden 100 nanómetros; las más pequeñas (en un canalículo de retículo endoplásmico liso (flecha)) miden unos 50 nanómetros. (Intestino humano, en ayunas de 6 horas. x 45.000).

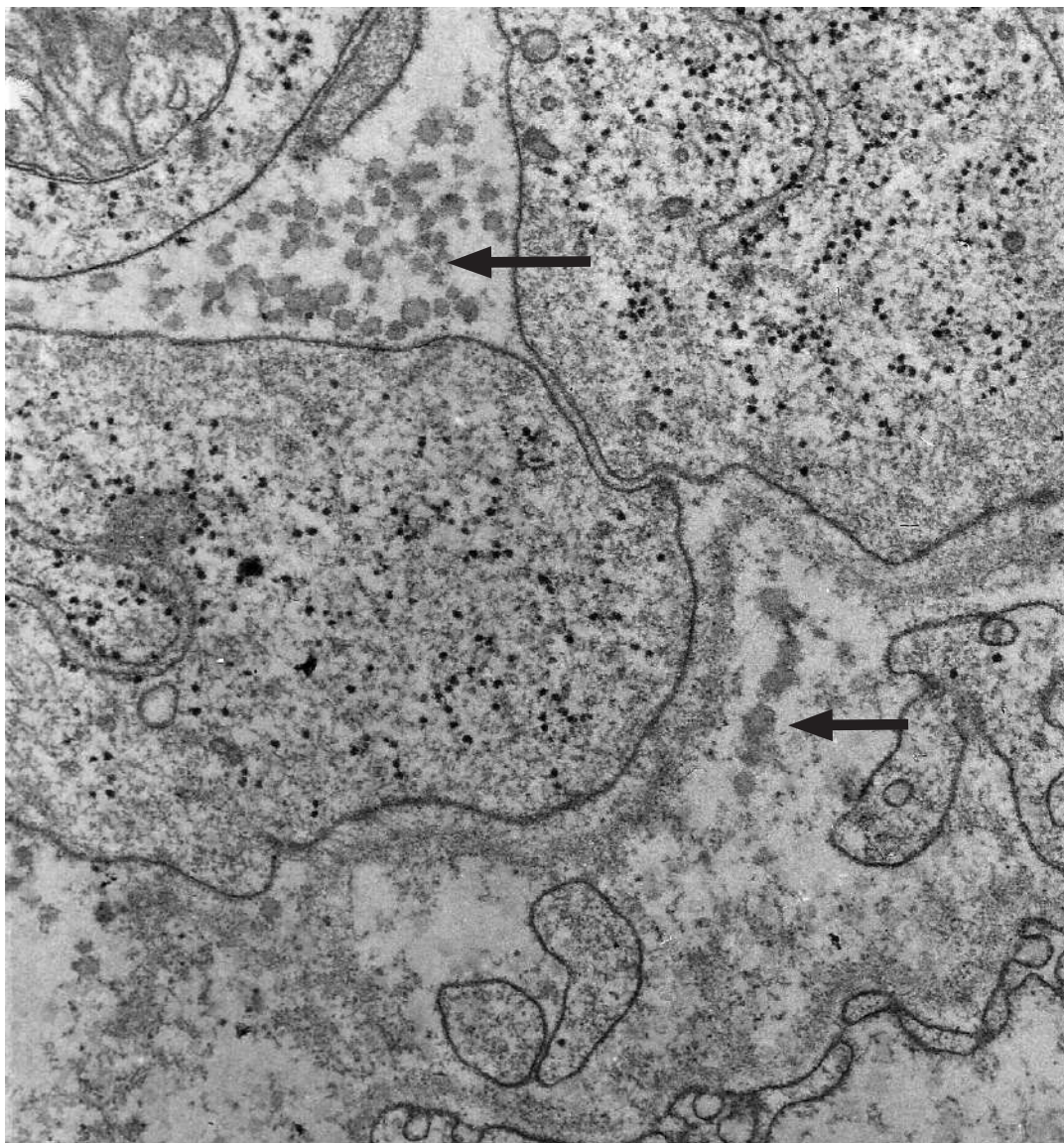


Figura 11. Partículas de lipoproteínas en el espacio intercelular del epitelio intestinal y en el corion de la mucosa; Son de tamaño uniforme y miden entre 30 y 60 nanómetros de diámetro (flechas). (Ayuno de 8 horas. x 50.000).

la coenzima A, ni reesterificados para formar TG, ni son tampoco incorporados a los quilomicrones. Los AG de cadena media difunden a través del citoplasma del enterocito y son secretados directamente a la circulación sanguínea donde se unen a la seroal-

búmina para su transporte. Estos AG representan, por lo tanto, una fuente de energía rápidamente utilizable por el organismo, por lo cual son frecuentemente utilizados en soluciones de nutrición enteral y en el manejo nutricional de pacientes.

Digestión y absorción de las vitaminas E y A

a) Vitamina E

La vitamina E es uno de los antioxidantes liposolubles más abundantes en el plasma y en las células. Existe en los alimentos en formas de tocoferoles y tocotrienoles, que tienen biodisponibilidades y actividades biológicas distintas. Se estima que aproximadamente el 50% de la vitamina E aportada por la dieta, se absorbe en el intestino proximal mientras que el resto se excreta en las deposiciones. La lipasa pancreática puede hidrolizar los ésteres de tocoferol y tocotrienol y los productos resultantes son incorporados a las micelas. Tradicionalmente se pensaba que la vitamina E era transportada al enterocito por difusión pasiva, siguiendo su gradiente de concentración; sin embargo, estudios en células intestinales Caco-2 han demostrado la existencia de un componente saturable que podría ser SR-BI (el cual también ha sido implicado en el transporte de CS). Posteriormente, los tocoferoles y tocotrienoles son incorporados a los quilomicrones y secretados al sistema linfático, como lo indica el hecho que la absorción intestinal de vitamina E sea inhibida por inhibidores de la MTP. Sin embargo, cabe destacar que existe también la alternativa de que la vitamina E sea secretada hacia la circulación sistémica junto con las HDL. La posibilidad de que la vitamina E sea transportada por los sistemas ABCA1 o ABCG5/G8 aún no ha sido clarificada.

b) Vitamina A

La vitamina A se encuentra en los alimentos como carotenoides, principalmente β -caroteno, en las frutas y verduras y como retinol esterificado por AG en productos de origen animal. En el lumen intestinal los ésteres de retinol son hidrolizados por la lipasa activada por sales biliares de origen pancreático o por la retinil éster hidrolasa del ribete estriado. La primera enzima es más específica para los ésteres con AG de cadena media o corta, mientras que la segunda enzima hidroliza aquellos conjugados con AG

de cadena larga. El retinol y los AG de cadena larga resultantes, son incorporados a las micelas mixtas. En condiciones fisiológicas, la captación de retinol (en su forma all-trans) por el enterocito se realiza por transporte activo, aunque cuando está presente en concentraciones farmacológicas penetra por difusión pasiva. La captación de carotenoides por el enterocito es más lenta que la del retinol. En la célula epitelial intestinal, los carotenoides son transformados por la β -caroteno monooxigenasa en retinal que luego es reducido a retinol. El retinol presente en el enterocito se une a la CRBP-II (Cellular Retinol Binding Protein-II). La mayoría del retinol es reesterificado por la lecitina:retinol aciltransferasa (LRAT) y almacenado en el citosol. Los ésteres de retinol pueden ser incorporados a quilomicrones y secretados al sistema linfático; este proceso es independiente de la captación del retinol y de las concentraciones intracelulares de ésteres de retinol. La mayoría de los ésteres de retinol detectados en plasma están presentes en quilomicrones y, en menor proporción, en las VLDL. Existe también secreción de retinol libre hacia la circulación, probablemente a través del sistema ABCA1; esta secreción podría ser importante en condiciones patológicas, cuando la secreción de quilomicrones está afectada.

La grasa en el colon

Se estima que diariamente llegan al colon 4 a 5g de grasa y son eliminados en las deposiciones. La mayoría son jabones insolubles de AG unidos con cationes, CS, SB y lípidos de origen bacteriano. Los AG insaturados que llegan al colon pueden sufrir modificaciones en sus doble enlaces: reducción (hidrogenación) u oxidación para formar AG hidroxilados u oxidados que pueden ejercer efectos catárticos o actuar como prooxidantes sobre las células del epitelio colónico. Por otra parte, se ha propuesto recientemente que el contenido de lípidos de la dieta es un factor importante que afecta a la microbiota intestinal y la función intestinal de barrera.

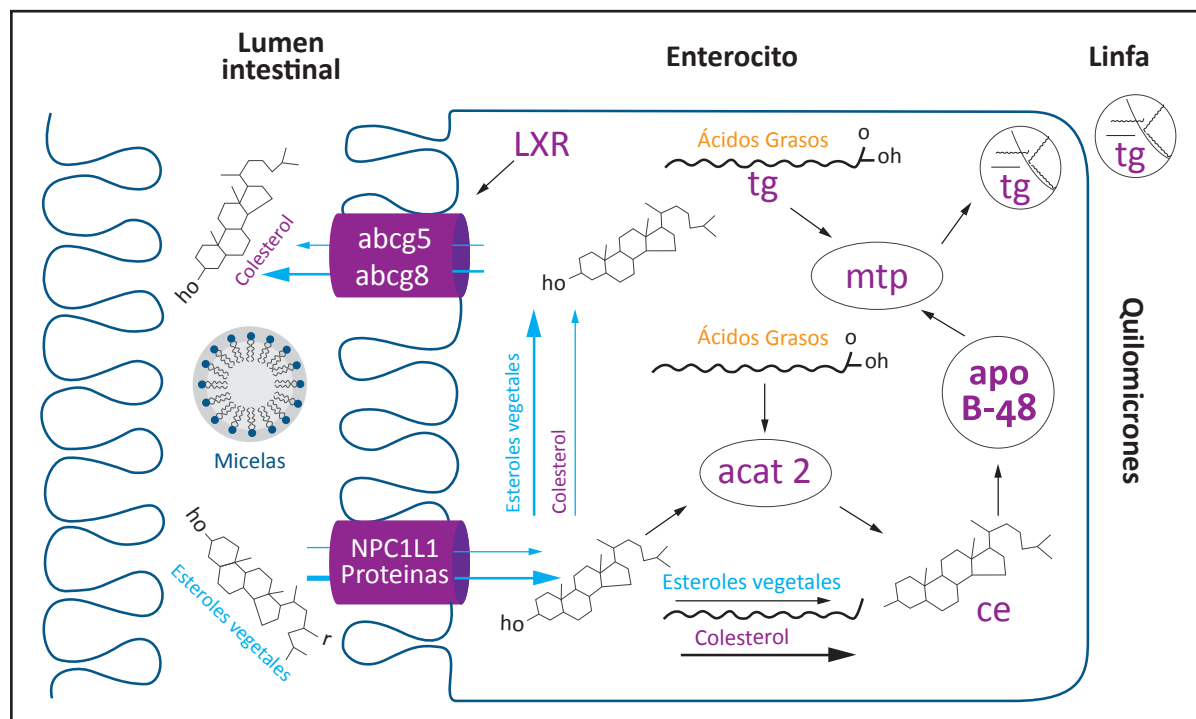


Figura 12. Mecanismos de acción de los fitoesteroles.

Modulación de la digestión y/o absorción intestinal de lípidos por componentes de la dieta o farmacéuticos

a) Fitoesteroles y fitoestanoles

Los fitoesteroles (FS) son estructuralmente similares al colesterol pero son de origen vegetal; su aporte en la dieta occidental (aproximadamente 400 mg/d) es equivalente al aporte de CS, pero puede ser mayor en los vegetarianos o en aquellos que consumen grandes cantidades de nueces, legumbres, semillas o granos. El NCEP-ATP III (National Cholesterol Education Program–Adult Treatment Panel III) recomienda consumir 2g de FS por día, como parte de una dieta saludable. Se estima que 20 a 25% de los FS de los vegetales, están presentes en formas glicosiladas, que no son tomadas en cuenta en los

ensayos convencionales, lo que puede llevar a subestimar su concentración real en los alimentos. Los FS y sus derivados hidrogenados, los fitoestanoles, son ampliamente utilizados para enriquecer productos alimenticios (margarina, yogur, leche, jugos, etc.) o como suplementos nutricionales para reducir los niveles circulantes de CS total y de LDL-CS. A pesar de que los FS son insolubles en agua y poco solubles en grasa, su esterificación aumenta su liposolubilidad. Los FS pueden, además, ser emulsionados con lecitina o MG, para su adición a alimentos no grasos como yogures, jugos, clara de huevo, etc. En el intestino, los FS se absorben unas 10 veces más (0,4%–5,0%) que los fitoestanoles (0,02%–0,3%), pero mucho menos que el CS (>55%). Es interesante notar que a pesar de su baja absorción, FS y fitoestanoles han sido detectados en placas de aterosclerosis y que pacientes con fitoesterolemia homocigota

desarrollan aterosclerosis en forma prematura; la concentración plasmática de FS en estos pacientes es 20 a 100 veces mayor que en los sujetos sanos (0,6- 2,0 mg/dL).

Los mecanismos que explican los efectos de los FS sobre las LDL-CS y el riesgo cardiovascular son aún materia de controversia. Por su similitud estructural, los FS inhibirían la absorción intestinal de CS compitiendo con él por su incorporación a las micelas mixtas y, posteriormente por su captación por el enterocito mediante el transportador NPC1L1 (Figura 12). Se ha propuesto que los FS, además, podrían estimular el LXR, aumentando la expresión del ABCG5/G8 en la membrana apical del enterocito y el transporte reverso de CS libre hacia el lumen. Este mecanismo, sin embargo, está en discusión puesto que los FS también logran reducir el CS en ratones knockout para ABCG5/G8 y LXR. En el enterocito, los FS pueden competir con el CS por su reesterificación por ACAT-2, aumentando la excreción al lumen por ABCG5/G8 del CS que no es reesterificado.

b) Proantocianidinas

Las proantocianidinas (PACs) son formas oligoméricas de dos a más de diez subunidades de flaván-3-ol (catequina, epicatequina y/o sus derivados), que se encuentran en altas concentraciones en distintos productos de origen vegetal, tales como la piel y semillas de uva, el vino tinto, cacao, palta, cranberries, cáscara de maní, canela, manzanas, etc. Las PACs de más de tres unidades son en general poco absorbibles en el intestino y tienden a acumularse en el lumen donde pueden interferir con la absorción de nutrientes, las enzimas digestivas y las SB, afectando la digestibilidad de los lípidos. En particular, se ha demostrado que las PACs provenientes de la manzana alteran la formación de micelas y aumentan la excreción fecal de SB, CS y de productos de oxidación del CS; observaciones similares han sido descritas con las PACs de uva y de cacao. Las PACs de manzana también inhiben *in vitro* la lipasa pancreática y su administración a ratones y humanos disminuye la trigliceridemia post-prandial. También se ha observado que las PACs de manzana reducen en

forma dosis-dependiente la reesterificación del CS y la síntesis de ApoB en células intestinales en cultivo, fenómeno que resulta en una menor secreción de quilomicrones. De acuerdo con estas observaciones, el consumo de vino tinto desalcoholizado por mujeres postmenopáusicas dislipidémicas, disminuye los niveles plasmáticos de ApoB-48 (un marcador de la secreción de quilomicrones) después de una comida. Los efectos de las PACs sobre la lipasa, las SB, la resíntesis de TG y la secreción de quilomicrones sugiere, por lo tanto, que su consumo podría contribuir a disminuir la absorción intestinal de grasa, mejorar el perfil lipídico y reducir los factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares.

c) Ezetimibe

El ezetimibe es un fármaco aprobado por la FDA para el tratamiento de los pacientes hipercolesterolémicos, ya que inhibe la absorción intestinal de CS. Se une a NPC1L1 a nivel del segundo dominio extracelular de la proteína, bloqueando la endocitosis del transportador inducida por CS. Este fenómeno se traduce por una menor expresión de SRB1 y de ABCA1, los cuales son regulados, vía el receptor LXR, por el contenido intra-celular de CS en el enterocito. Además de actuar directamente sobre NPC1L1, el ezetimibe puede ser absorbido y glucuronizado por las células intestinales; su forma glucuronizada es transportada al hígado y luego secretada por la bilis al lumen duodenal donde puede inhibir NPC1L1 en forma más eficiente que la molécula original. Se ha demostrado que la administración de ezetimibe reduce los niveles de CS y de LDL-CS circulantes en un 15 a 25%. Como la inhibición de la absorción intestinal de CS resulta en el aumento compensatorio de su biosíntesis endógena, el ezetimibe es frecuentemente utilizado en combinación con estatinas, las cuales bloquean dicha biosíntesis a nivel hepático. Como NPC1L1 también está expresado a nivel hepático, la recirculación enterohepática del ezetimibe le permitiría también inhibir su función, disminuyendo la captación de CS por el hepatocito y aumentando su excreción en la bilis.

d) Secuestradores de sales biliares

Los secuestradores de SB son resinas de intercambio aniónico (Colestiramina, Colestipol, etc.) que se unen en forma irreversible a dichas sales. Con esto disminuyen la formación de micelas a nivel duodeno-yeyunal y la reabsorción de SB a nivel ileal, aumentando su excreción fecal y la de CS. La interrupción del ciclo enterohepático de las SB induce el aumento de su síntesis en el hígado como mecanismo de compensación de las pérdidas, proceso que se realiza a expensas del pool sistémico de CS. La menor concentración de SB en los hepatocitos puede resultar en una elevación leve de las concentraciones de HDL y en un descenso de las LDL, probablemente a través de la estimulación del Farnesoid X Receptor (FXR) y de la inhibición del Liver X Receptor (LXR) a nivel hepático. Se ha descrito que la administración de estas resinas iónicas podría estimular la secreción de GLP-1 por células enteroendocrinas del epitelio intestinal e impactar positivamente el metabolismo glucídico y la insulinemia. Sin embargo, la administración de estos agentes secuestradores de SB puede afectar la absorción de vitaminas y drogas liposolubles y producir efectos secundarios adversos en el tubo digestivo.

e) Orlistat

Orlistat (tetrahidrolipstatina) es un fármaco aprobado en 1999 por la FDA para el manejo de la obesidad. Ensayos clínicos han demostrado que su administración por más de 2 años junto con una dieta hipocalórica disminuía significativamente el peso corporal, comparado con el placebo; dicha pérdida de peso estaba asociada con un menor riesgo cardiovascular. Orlistat tiene una baja absorción intestinal y actúa en el lumen del tubo digestivo inhibiendo en forma específica las lipasas gástricas y pancreáticas (en un 47 a 91% según los individuos), sin afectar a las demás actividades enzimáticas pancreáticas, incluyendo a la fosfolipasa A2. Dicha inhibición de la lipasa reduce la absorción de los TG en un 30% aproximadamente y aumenta en forma correlativa su excre-

ción en las deposiciones. Por esta razón, se estima que 8 a 27% de los sujetos tratados con orlistat desarrollan efectos digestivos adversos (esteatorrea, sensación de deposiciones aceitosas, urgencia fecal, etc.) que, si bien tienden a disminuir con el tiempo, afectan la adhesión de los pacientes al tratamiento. Por otra parte, el uso de Orlistat puede reducir la absorción de las vitaminas liposolubles y de ciertos fármacos como la ciclosporina.

f) Fenofibrato

Los derivados del ácido fibrico (fenofibrato, gemfibrozilo) son activadores del Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPAR α), un factor de transcripción que regula la expresión de genes involucrados en el metabolismo lipídico, tales como aquellos relacionados con el transporte y oxidación de los AG y la actividad de la LPL. La administración de fenofibrato disminuye los triglicéridos circulantes y aumenta los niveles de HDL. A nivel intestinal, el fenofibrato podría disminuir la absorción de CS a través de la modulación de la expresión de NPC1L1.

Referencias

1. Wang DQH. Regulation of intestinal cholesterol absorption. *Annu Rev Physiol* 2007; 69: 221–48.
2. Iqbal J, Hussain M. Intestinal lipid absorption. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296: E1183-E1194.
3. Trauner M, Boyer JL. Bile Salt Transporters: Molecular characterization, function, and regulation. *Physiol Rev* 2003; 83: 633–71.
4. Sudhop T, Lqtjohann D, von Bergmann K. Sterol transporters: targets of natural sterols and new lipid lowering drugs. *Pharmacol Therap* 2005; 105: 333-41.
5. Lammaert F, Wang DQH. New Insights into the genetic regulation of intestinal cholesterol absorption. *Gastroenterology* 2005; 129: 718-34.
6. Kindel T, Lee DM, Tso P. The mechanism of the formation and secretion of chylomicrons. *Atherosclerosis Suppl* 2010; 11: 11-16.
7. Black DD. Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. I. Development of intestinal lipid absorption: cellular events in chylomicron assembly and secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; G519-G524.
8. Betters JL, Yu L. PC1L1 and cholesterol transport. *FEBS Letters* 2010; 584: 2740-47.
9. Gupta A, Guyomard V, Zaman JS, Rehman HU, Myint PK. Systematic review on evidence of the effectiveness of cholesterol-lowering drugs. *Adv ther* 2010; 27: 348-64.
10. Phan CT, Tso P. Intestinal lipid absorption and transport. *Front Biosci* 2001; 6: 299-319.
11. Bladé C, Arola L, Salvado MJ. Hypolipidemic effects of proanthocyanidins and their underlying biochemical and molecular mechanisms. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54: 37–59.

Digestión y absorción de las proteínas

Martin Gotteland, Óscar Brunser

El aporte de proteínas en la dieta representa entre el 12 y el 15% del aporte energético diario total del individuo. En el caso de los adultos, significa el consumo de 0.75 a 0.80g de proteína por kg y por día; en las mujeres, estas cantidades deben ser incrementadas en 6g/d durante el embarazo y en 16g/d durante el amamantamiento. A los 60 a 100g de proteínas provenientes de la dieta que llegan diariamente al tubo digestivo, hay que agregar 30 a 60g de proteínas endógenas que están presentes en las secreciones gástricas, biliares, pancreáticas (enzimas, mucinas...), e intestinales (proteínas plasmáticas, IgAs...), además de aquellas provenientes de las aproximadamente 150g de células epiteliales que se descaman cada día en el lumen intestinal y de las bacterias muertas de la microbiota intestinal. Cabe destacar que las proteínas de la dieta son la principal fuente de aminoácidos esenciales que son indispensables para mantener el equilibrio del balance nitrogenado. La digestión y absorción de las proteínas, es un proceso eficiente pero el coeficiente de utilización digestiva $[\text{CUD} = (\text{Ningerido} - \text{Nfecal}) \times 100 / \text{Ningerido}]$ de las proteínas, puede ser afectado por varios factores como son su naturaleza (por ejemplo su riqueza en prolina como en el caso de la keratina o del colágeno), la presencia de envolturas celulósicas (leguminosas) o la presencia de inhibidores de proteasas; la cocción del alimento generalmente aumenta el CUD de las proteínas. En término general, el CUD de las proteínas de origen animal es mayor que el de aquellas de origen vegetal. Por ejemplo, el CUD de la harina refinada de trigo es del 96% mientras es del 86% para la harina integral; en cambio, es

del 100% para la proteína de huevo cocido mientras que es sólo del 30% cuando está crudo. Diariamente se eliminan alrededor de 9g de proteínas por las deposiciones (es decir <1.05g de nitrógeno), que corresponden principalmente a proteínas bacterianas y mucinas que están presentes en grandes cantidades en el colon distal.

Varios factores, sin embargo, influyen sobre la digestibilidad de las proteínas. Es necesario diferenciar las proteínas que pueden ser hidrolizadas por las proteasas en forma directa (proteína del huevo, de los productos lácteos), de aquellas que deben ser primero liberadas del tejido conjuntivo que las engloba (proteínas de carne y de pescado), de las nucleoproteínas presentes en el núcleo de las células y que requieren de una digestión previa por nucleasas, y de las proteínas que constituyen tendones y otros tejidos conectivos.

1. Digestión de las proteínas

a) Fase gástrica

La secreción gástrica contiene alrededor de 3g/L de proteínas principalmente pepsina y factor intrínseco. La pepsina es secretada en forma inactiva como pepsinógeno (I y II) por las células principales de la mucosa gástrica. Este proceso es regulado por la gastrina y la histamina y por el sistema nervioso (vago/acetilcolina). El pepsinógeno se activa con el pH ácido del estómago: el ácido clorhídrico liberado por las células parietales produce un cambio conformacional en la molécula que favorece la autocatálisis de la molécula y la formación de pepsina activa. La

pepsina tiene su máxima actividad enzimática a pH 1-3 y se inactiva a pH > 4.5. Su acción sobre las proteínas es facilitada por su denaturación por el ácido clorhídrico. En función del pH, el HCl contribuye a insolubilizar algunas proteínas (como la caseína de leche) y a solubilizar otras. Como muchas de las proteínas tienen cargas negativas a pH ácido, pueden neutralizar los protones y generar un aumento del pH que puede llevar a inactivar la pepsina. Tanto el aumento del pH intraluminal como la presencia de proteínas, son factores que estimulan la secreción de ácido estimulada por la liberación de gastrina; la secreción de ácido, por lo tanto, es directamente proporcional a la cantidad de proteína aportada por los alimentos.

La pepsina es una endopeptidasa que actúa sobre los enlaces peptídicos formados por aminoácidos aromáticos (tirosina, fenilalanina, triptofano), generando principalmente oligopéptidos de gran tamaño que no son absorbibles (peptonas). La secreción gástrica también contiene catepsina, cuya pH óptimo es de 5.5 y que contribuye a la digestión de las proteínas en el estómago. Se ha determinado que alrededor del 10-15% de la digestión de las proteínas de la dieta ocurre en el estómago; sin embargo, no es un proceso esencial para la digestión completa de las proteínas. En el recién nacido, la función de secreción de HCl es inmadura; el estómago produce quimosina que actúa sobre la unión Phe-Met de la κ -caseína, permitiendo su floculación y facilitando su posterior degradación.

Las proteínas se encuentran principalmente en la fase sólida del quimo gástrico y en consecuencia, su vaciamiento a través del píloro hacia el duodeno se efectúa en forma constante y regular. Las proteínas que llegan al duodeno se encuentran en forma de partículas de pequeño tamaño o bien solubilizada para aquellas que fueron parcialmente digeridas en el estómago.

b) Fase intestinal

Los péptidos y aminoácidos que llegan al duodeno estimulan la liberación de colecistoquinina (CCK) por las células enteroendocrinas del epitelio. Esta hor-

mona estimula a las células acinares del páncreas exocrino para que liberen los precursores inactivos (zimógenos) de las proteasas pancreáticas, lo cuales llegan al lumen duodenal por el canal pancreático. Además de la CCK, el olor y la vista de la comida (fase cefálica de la digestión gástrica), así como la distensión del estómago, también estimulan la liberación de zimógenos a través de mecanismos que implican al sistema nervioso parasimpático (vago). La enteroquinasa, una serina-proteasa presente en la membrana del ribete estriado de los enterocitos, tiene alta especificidad para el tripsinógeno del que hidrolisa el octapeptido amino-terminal, liberando la tripsina activa. La tripsina, también una serina-proteasa, actúa sobre los demás zimógenos, liberando endopeptidasas (quimotripsina, elastasa, colagenasa) y exopeptidasas (carboxipeptidasas). Cada una de estas enzimas actúa en un rango de pH de 6 a 7 en sitios específicos de la cadena peptídica de las proteínas, que son determinados por la estructura química de los aminoácidos presentes; dicha estructura constituye una señal para que la proteasa ejerza su acción hidrolítica. Así, la tripsina actúa a nivel de los aminoácidos básicos (Lys, Arg) y la quimotripsina a nivel de aminoácidos hidrofóbicos de gran tamaño (Tyr, Phe Trp, Met y Leu) mientras que la elastasa actúa a nivel de los aminoácidos neutros de pequeño tamaño (Ala, Gly, Ser, Val). Las endopeptidasas inician la digestión de las proteínas y polipéptidos que llegan al duodeno, liberando una mezcla de polipéptidos formados por alrededor de 10 aminoácidos. Posteriormente las carboxi- y aminopeptidasas liberan los aminoácidos ubicados en el terminal COOH de las cadenas, liberando aminoácidos libres y oligopéptidos de 2 a 6 aminoácidos de longitud. La presencia de prolina en la proximidad de estos aminoácidos o en las extremidades carboxílicas, inhibe la acción hidrolítica de estas enzimas, lo cual explica la menor digestibilidad de las proteínas con altos contenidos en este aminoácido. La digestión luminal de las proteínas resulta en liberación de aminoácidos libres (30% del total, principalmente Arg, Lys, Phe Tyr, Leu) y oligopéptidos (70%). Se estima que la concentración yeyunal de péptidos

después de la administración de albumina, alcanza los 120-145 mM mientras que la concentración individual de los aminoácidos varía entre 0.6 y 16 mM, con una concentración total de 30 a 60 mM.

c) Digestion terminal

La digestión de las proteínas es completada por diversas peptidasas presentes en el ribete estriado de los enterocitos. Estas enzimas actúan a nivel de los enlaces peptídicos de los oligopéptidos, hidrolizándolos pero también pueden actuar directamente sobre algunas proteínas como la α -caseína. La peptidasa más abundante es la aminopeptidasa, que libera los aminoácidos ubicados en la extremidad NH₂ terminal de los péptidos. Existen otras aminopeptidasas: las aminopeptidasas A y N, la dipeptidilpeptidasa IV y la prolina-iminopeptidasa que posee una alta eficiencia para hidrolizar aquellos péptidos con prolina que no pudieron ser digeridos por las proteasas pancreáticas. En el ser humano, la actividad de estas enzimas es menor en los segmentos proximales del intestino que en el íleon, lo que indica que su papel es complementario del de las enzimas pancreáticas. El ribete estriado contiene también una carboxipeptidasa, la peptidil dipeptidasa, una enzima que está asociada también con la regulación inmunitaria, la transducción de señales y la apoptosis. Algunos factores de la dieta modulan las proteasas del ribete estriado, en particular su contenido de proteínas o péptidos que estimulan las aminopeptidasas en mayor grado que los aminoácidos libres.

Además de las peptidasas del ribete estriado, los enterocitos también poseen di/tripeptidasas en su citoplasma, que pueden hidrolizar los péptidos transportados al interior de la célula. Alrededor del 90% de los dipéptidos y el 50% de los tripeptidos son hidrolizados por peptidasas citoplasmáticas. Aunque la mayor parte del nitrógeno proteico es transportado hacia el compartimento sistémico como aminoácidos, algunos di y tripéptidos también pueden ser absorbidos como tales y una pequeña fracción (~1%) puede pasar en forma intacta. El transporte de proteínas intactas hacia la circulación puede aumentar en condiciones patológicas que afectan la

integridad de la mucosa intestinal; dichas proteínas pueden desencadenar respuestas inmunes e inflamatorias adversas tanto a nivel local en el intestino, como sistémico. Algunos péptidos bioactivos de origen dietético pueden pasar a la circulación y ejercer efectos en el organismo.

2. Absorción de aminoácidos

La tasa de absorción de los aminoácidos depende de la concentración molar de cada uno de ellos en el lumen. Muchos aminoácidos se absorben en forma más eficiente como péptidos que en su forma libre. Los aminoácidos libres pueden ser transportados al interior del enterocito por simple difusión, a través de la membrana cuando sus concentraciones intraluminales son altas, o bien por sistemas de transporte facilitado o de transporte activo dependiente de gradiente de Na⁺. No existe por cada aminoácido un transportador específico, sino que distintos sistemas capaces de transportar grupos de aminoácidos con estructura y características fisicoquímicas similares (Tabla 1). Dichos sistemas de transporte tienen estéreo-especificidad para los L-aminoácidos, pero tanto el D-Asp como la D-Ser, también pueden ser absorbidos cuando son aportados por los alimentos. Los sistemas de transporte ubicados en la membrana apical son específicos del intestino y transportan aminoácidos neutros, ácidos, básicos o iminoácidos, mientras que aquellos ubicados en la membrana basolateral existen también en otros tipos celulares, en particular en las células de los túbulos renales. Los transportadores presentes a nivel basolateral permiten abastecer al enterocito con aminoácidos desde la circulación. Los transportadores pueden ser monoméricos o heterodiméricos, formados a partir de distintas subunidades. Algunos de los sistemas de transporte (de aminoácidos neutros o ácidos) de la membrana apical funcionan como co-transportadores (simport) ya que, además del aminoácido considerado, transportan sodio u otros iones según su gradiente electroquímico mientras que otros (de aminoácidos básicos) son independiente del gradiente de Na⁺ y usan el potencial de mem-

Sistemas de transporte	Dominio en la membrana	Dependencia de iones	Sustratos
A	Basolateral	Na ⁺	Gly, Pro, Ala, Ser, Cys, Gln, Asn, His, Met
ASC	Apical	Na ⁺	Gly, Ala, Ser, Cys, Gln, Asn, Met, aa cationicos
B ⁰	Apical	Na ⁺	aa neutros, Gln
B ⁰ , +	Apical	Na ⁺ , Cl ⁻	aa neutros y cationicos, β-ala
b ⁰ , +	Apical		Arg, Lys, Orn, Cys
IMINO	Apical	Na ⁺ , Cl ⁻	Pro, OH-Pro
L	Basolateral		aa ramificados
PAT	Apical	H ⁺	Pro, Gly, Ala, GABA, β-ala
T	Basolateral		Phe, Tyr, Trp
X ⁻ AG	Apical	Na ⁺ , K ⁺ , H ⁺	Asp, Glu
X ⁻ e	Basolateral		Glu, Cys
y ⁺	Basolateral		Arg, Lys, Orn, His
y ⁺ L	Basolateral	Na ⁺ (para los aa neutros)	Lys, Arg, Gln, His, Met, Leu, Ala, Cys

Tabla 1. Sistema de transporte de aminoácidos en el intestino.

brana como fuerza electromotora para su absorción. Además de los aminoácidos que participan en la composición de las proteínas, el epitelio intestinal también puede absorber otros tipos de aminoácidos presentes en los alimentos tales como la creatina, la ornitina, la taurina, la β-alanina, el GABA y la L-DOPA.

Cabe destacar que varios aminoácidos tales como el glutamato, la glutamina, el aspartato y la arginina son metabolizados por los enterocitos (Figura 2). La glutamina en particular es utilizada como fuente preferencial de energía por las células epiteliales del intestino delgado; en los periodos interprandiales, estas células pueden captar la glutamina circulante liberada por el músculo gracias a sus transportadores en la membrana basolateral. Además de NH₃, lactato, alanina y prolina, el metabolismo intestinal de la glutamina también libera citrulina hacia la circulación, un compuesto que ha sido propuesto como un marcador de la masa funcional intestinal.

Cabe destacar que se ha descrito un número de defectos congénitos del transporte de aminoácidos, que también están asociados a defectos de la reabsorción de aminoácidos por las células del túbulo renal (por ejemplo la cistinuria).

3. Absorción de péptidos

En el intestino delgado de varias especies se ha identificado en forma exclusiva un sistema de transporte activo para di/tri-peptidos, PepT1, (Figura 1). La expresión de Pept1 es mayor en el íleon que en el duodeno, confirmando que parte del nitrógeno proteico se absorbe en el intestino distal, especialmente en forma de di y tripeptidos. Pept1 es un transportador activo terciario, que co-transporta péptidos hacia el citoplasma del enterocito junto con protones. Pept1 está asociado con el intercambiador NHE-3, (Na⁺/H⁺ Exchanger-3) que re-exporta los protones hacia el lumen intestinal, intercambiándolos por Na⁺

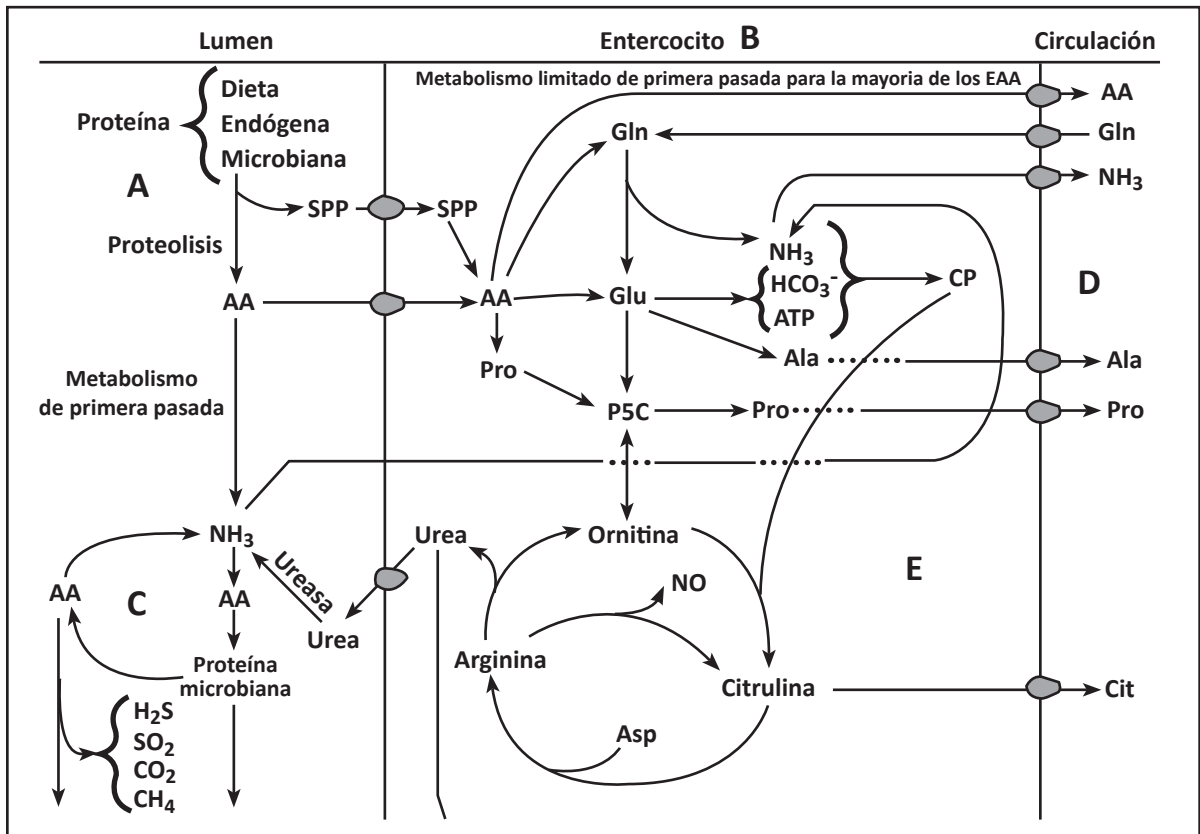


Figura 2. Metabolismo nitrogenado en el intestino y el colon.

y evitando la acidificación del medio intracelular. La actividad del NHE-3 depende del gradiente de Na⁺ generado por la Na⁺/K⁺-ATPasa presente en la membrana basolateral. El gen del hPEPT1 está presente en el cromosoma 13q33-34 y codifica una proteína de 708 aminoácidos con 12 dominios transmembranosos y con sus dos terminales amino y carboxi, a nivel intra-citoplasmático. Otra particularidad de Pept1 es la enorme gama de sustratos que puede transportar, alrededor de 400 dipéptidos y 8000 tripéptidos distintos, con un amplio rango de pesos moleculares y de cargas eléctricas, a lo que hay que agregar su capacidad de transportar fármacos como antibióticos de tipo β-lactam e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE). La abundancia y activi-

dad de Pept1 en las células epiteliales es regulada por hormonas. La leptina, que es secretada en el lumen gástrico por las células de la mucosa gástrica puede unirse, en el lumen intestinal, a su receptor en la membrana apical del enterocito, y aumentar la densidad de PEPT1 en dicha membrana a través del reclutamiento de este transportador desde vesículas presentes en el citoplasma. Mientras que la insulina, la leptina y la hormona de crecimiento aumentan el transporte de péptidos, la triiodotironina (T3) lo reduce así como la expresión de Pept1. La expresión intestinal de PEPT1 muestra variaciones circadianas en animales mantenidos en un ciclo luz/obscuridad definido, siendo mayor al final del día que en la mañana. En ratas, el ayuno agudo y crónico y la des-

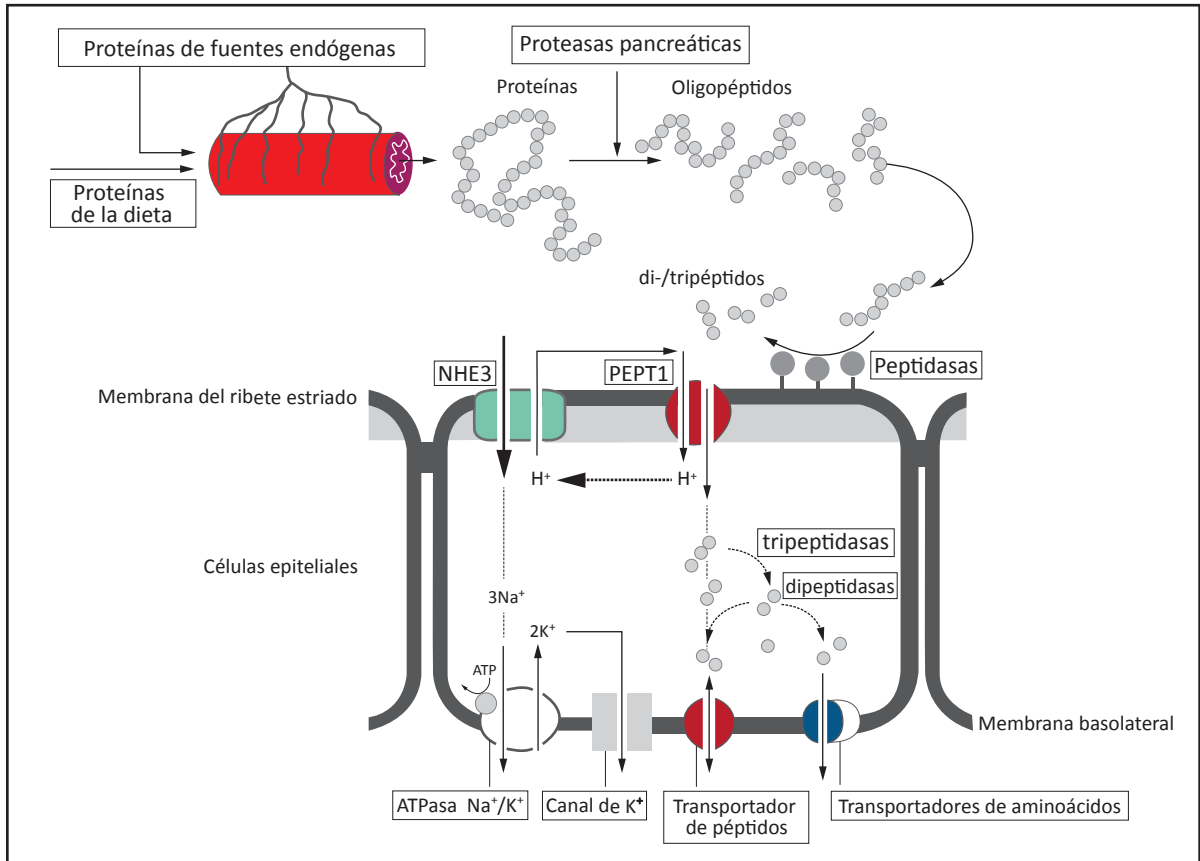


Figura 1. Transporte intestinal de péptidos.

nutrición aumentan la expresión de PEPT1. Similarmente la expresión del transportador no es afectada por fármacos como el 5-fluorouracil, lo que sugiere que el transporte de péptidos se mantiene intacto pese a las alteraciones que este fármaco induce en la mucosa intestinal de los pacientes tratados.

En términos generales, se considera que la absorción de aminoácidos y péptidos en el colon es mínima. Sin embargo, se ha detectado la presencia de los transportadores necesarios para la absorción de dichos compuestos en la mucosa colónica y por otra parte, se ha detectado aminoácidos de origen bacteriano en la circulación; el significado nutricional de esta eventual absorción colónica de aminoácidos y péptidos no está determinado.

4. Errores congénitos de la absorción de aminoácidos y péptidos

Los órganos encargados de la absorción y reabsorción de los aminoácidos, el intestino y el riñón, comparten transportadores específicos cuyos genes pueden presentar mutaciones asociadas con pérdida de función en uno o ambos órganos. De los errores congénitos de la absorción de los aminoácidos y los péptidos que resultan, tres de ellos, la enfermedad de Hartnup, la cistinuria y la intolerancia lisinúrica a las proteínas, son las más frecuentes y mejor estudiadas en cuanto a sus mecanismos y repercusiones a nivel de los enterocitos, los túbulos renales

y a nivel sistémico. Estas patologías han servido para aclarar aspectos del funcionamiento de los sistemas de transporte de los aminoácidos, poniendo en evidencia las diferencias de sus mecanismos de absorción cuando están en forma libre como moléculas individuales en el lumen intestinal, o incorporados a péptidos. Estos estudios permitieron plantear que en células polarizadas, como aquellas del epitelio intestinal y del epitelio tubular renal, los transportadores de la membrana plasmática apical son funcionalmente diferentes de aquellos de la membrana basolateral.

a) Enfermedad de Hartnup

Descrita en 1956, se caracteriza por una lesión cutánea parecida a la de la pelagra, con sensibilidad a la luz solar, ataxia cerebelosa, y aminoaciduria. Es causada por una mutación del gen SLC6A19 (MIM 234500), localizado en el cromosoma 5p15.33, y que afecta el transportador de los aminoácidos bipolares y neutros tanto en el intestino como en el riñón (Ala, Asp, citrulina, Phe, Gln, His, Ile, Leu, Ser, Tyr, Thr, Trp y Val). Pese a esto no se produce desnutrición proteica porque estos aminoácidos también vienen incorporados a di, tri, tetra y pentapéptidos, los cuales son hidrolizados por peptidasas citoplasmáticas en los enterocitos y transportados a través de la membrana plasmática basolateral a la circulación sistémica. Esto confirma que los transportadores de la membrana plasmática de las microvellosidades son diferentes de aquellos de la membrana basolateral. Además de esta forma clásica que afecta a ambos órganos existe otra forma que afecta exclusivamente al riñón. Aquellos aminoácidos no absorbidos llegan al colon donde son oxidados por la microflora residente; estos productos catabólicos son absorbidos y excretados por la orina donde aparecen en forma de ácidos indolacéticos, kinurenina, etc.

La frecuencia de esta enfermedad sería de un caso por cada 15.000 nacidos vivos. Los síntomas serían causados por el defecto de la absorción del triptófano, que resulta en síntomas de deficiencia de niacina cuando la dieta no aporta cantidades adecuadas de esta vitamina. La piel se pigmenta en las

zonas expuestas al sol: cara, cuello (collar de Casal), antebrazos y manos, se engruesa y descama. Los síntomas neurológicos y psiquiátricos son muy variables y van desde la ataxia con debilidad muscular a cefaleas, convulsiones, inestabilidad emocional y delirio. Los síntomas tienden a manifestarse en la infancia y se atenúan en la edad adulta. El diagnóstico de laboratorio se basa en la demostración de la aminoaciduria y el aumento de la excreción urinaria de indoles después de una sobrecarga de 10 mg de triptófano. La sintomatología de tipo pelagroide desaparece al administrar niacinamida a razón de 40 a 200 mg/día. La administración de 1-2 mg/día de trihexifenidil permite controlar los movimientos anormales. La excreción urinaria de indol disminuye considerablemente al administrar antibióticos no absorbibles (rifaximina, neomicina). Los enfermos deben protegerse de los rayos solares para evitar las pigmentaciones.

b) Cistinuria

Es un defecto del transportador apical de cistina, asociado con defectos de la absorción de arginina, lisina y ornitina. A nivel del ápice de los enterocitos están afectados los sistemas transportadores B⁰ y b⁰⁺. Es una de las alteraciones genéticas más frecuentes con una prevalencia de 1 caso en aproximadamente 7.000 nacidos vivos. Se transmite como un carácter recesivo. Es causada por una mutación en el gen SLC3A1 localizado en el cromosoma 2p, que codifica la unidad pesada del transportador renal del aminoácido; otra forma es producida por una mutación del gen SLC7A9 que codifica la unidad liviana del transportador y está ubicado en cromosoma 19q13. Es probable que en algunos grupos humanos haya formas de cistinuria asociadas con mutaciones de otros genes. La cistina es poco soluble y precipita en la vía urinaria dando origen a cálculos con la consecuencia de obstrucciones, infecciones y eventualmente, insuficiencia renal. En base a los patrones de excreción de aminoácidos detectados en presuntos heterocigotos se han descrito tres tipos de esta enfermedad. El tipo I es producido por la mutación del gen SLC3A1 y tiene aminoaciduria

normal; los tipos II y III, producidos por la mutación de SLC7A9, muestran niveles elevados o moderados de excreción de cistina y de los aminoácidos dibásicos, respectivamente. El tipo III muestra aumentos casi normales de la cisteína plasmática después de su administración oral. Los heterocigotos del tipo II pueden mostrar aumentos de la cistina y la lisina urinarias.

La malabsorción de cistina y aminoácidos dibásicos a nivel de los enterocitos no induce síntomas. Los individuos afectados pueden permanecer asintomáticos por períodos de duración variable hasta que aparece sintomatología causada por la presencia de cálculos renales, a veces desde edades muy tempranas, con dolor abdominal o lumbar, hematuria y fiebre. El diagnóstico se puede sospechar mediante la prueba de nitroprusiato y la cuantificación de los aminoácidos en la orina: en los pacientes homocigotos la concentración de cistina supera los 250 mg/g de creatinina. El manejo clínico consiste en la administración de grandes volúmenes de agua por vía oral inclusive durante la noche, que incluso pueden llegar a disolver algunos cálculos. Se puede recurrir también a la alcalinización urinaria con bicarbonato o citrato de sodio ya que la cistina es soluble en medios alcalinos. Otras medidas han sido la restricción de la ingesta de metionina o la administración de penicilamina o de α -mercaptopropionil glicina. Es importante iniciar las medidas preventivas de los cálculos renales en los primeros años de la vida para evitar el deterioro de la función renal.

c) Intolerancia lisinúrica a las proteínas

Este cuadro, también llamado aminoaciduria dibásica II, es un defecto recesivo del transporte de los aminoácidos catiónicos (lisina, arginina y ornitina) sin compromiso de la cistina que afecta tanto a los transportadores de la membrana apical de los enterocitos y como a los de las células tubulares renales. El defecto se debe a mutaciones del gen SLC7A7 del transportador de aminoácidos localizado en el cromosoma 14q11.2. Hasta la fecha se han identificado un gran número de mutaciones que afectan a este gen. Los aminoácidos afectados son absorbi-

dos de manera deficiente tanto si son presentados al transportador en forma aislada o incorporados en péptidos. Esto hace que no exista un mecanismo alternativo de respaldo que permita el ingreso de cantidades adecuadas de los aminoácidos afectados y como resultado se producen pérdidas fecales y urinarias importantes de estos compuestos y sus niveles en el plasma son bajos. Otra consecuencia de este fenómeno es la desnutrición que afecta a los pacientes no tratados. El hecho que la absorción de los aminoácidos incorporados en péptidos sea defectuosa indica que el transportador de la membrana basolateral de los enterocitos está afectado, probablemente el transportador y^+ , cuyos sustratos son los aminoácidos catiónicos pero no la cistina; este sistema de transporte, además, está presente en los hepatocitos, que también están afectados en este cuadro.

Los individuos afectados permanecen en general asintomáticos mientras están siendo amamantados ya que la leche materna contiene bajas concentraciones de proteínas. Cuando, después del destete, los afectados comienzan a recibir alimentos con mayor contenido de proteína se comienzan a manifestar episodios de hiperamonemia postprandial debido a que el defecto de la absorción de la ornitina afecta el normal funcionamiento de ciclo de la urea. Los episodios de hiperamonemia se manifiestan por vómitos, cefalea, alteraciones de la conciencia y pueden llegar al estupor, el coma y la muerte. Como consecuencia de los episodios de hiperamonemia muchos pacientes terminan experimentando retardo del desarrollo intelectual. Con el correr del tiempo los pacientes comienzan a rechazar el consumo de proteínas para evitar esta sintomatología. Como resultado se produce retardo del peso y la talla y muchos de ellos llegan a grados avanzados de desnutrición. En esta etapa de la evolución el hígado se infiltra con grasa y aumenta de tamaño, se fibrosa y puede aparecer esplenomegalia secundaria a la cirrosis hepática. Además del retardo del crecimiento pueden existir alteraciones esqueléticas, fundamentalmente osteoporosis, con tendencia a las fracturas patológicas.

Los exámenes de laboratorio revelan la presencia hiperamonemia postprandial y de pérdidas aumentadas de lisina, arginina y ornitina por las deposiciones y la orina; sus niveles en el plasma pueden estar en un rango que va de normal a bajo. El tratamiento consiste en limitar el consumo de proteína y la administración de suplementos de citrulina, que estimula la tolerancia a las proteínas de la dieta. Si se presentan síntomas de hiperamonemia, esta debe ser tratada mediante la suspensión del aporte de proteínas, la infusión endovenosa de los aminoácidos cuya absorción está alterada. La administración de benzoato de sodio o de fenilbutirato permite captar amonio y disminuir sus niveles plasmáticos. Puede ser necesario administrar carnitina para evitar lesiones renales.

Referencias

1. Broër S. Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia. *Physiol Rev* 2008; 88: 249–286.
2. Bergen WG, Wu G. Intestinal nitrogen recycling and utilization in health and disease. *J Nutr* 2009; 139: 221-25.
3. Palacín M, Nunes V, Font-Llitjós M, Jiménez-Vidal M, Fort J, Gasol E, Pineda M, Feliubadaló L, Chillarón J, Zorzano A. The genetics of heteromeric amino acid transporters. *Physiology (Bethesda)* 2005; 20: 112-24.
4. Hannelore D. Molecular and integrative physiology of intestinal peptide transport. *Annu Rev Physiol* 2004; 66: 361–84.
5. Adibi SA. Regulation of expression of the intestinal oligopeptide transporter (Pept-1) in health and disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G779-G788.
6. Wellner D, Meister A. A survey of inborn errors of amino acid metabolism and transport in man. *Ann Rev Biochem* 1981; 50: 911-68.
7. Scriver, C. R., Mahon, B., Levy, H. L., Clow, C. L., Reade, T. M., Kronick, J., Lemieux, B., Laberge, C. The Hartnup phenotype: mendelian transport disorder, multifactorial disease. *Am J Hum Genet* 1987; 40: 401-412.
8. International Cystinuria Consortium. Non-type I cystinuria caused by mutations in SLC7A9, encoding a subunit (b(0,+)-AT) of rBAT. *Nature Genet* 1999; 23: 52-57.
9. Sperandio, M. P., Andria, G., Sebastio, G. Lysinuric protein intolerance: update and extended mutation analysis of the SLC7A7 gene. *Hum Mutat* 2008; 29: 14-21.

Absorción y transporte de microminerales

Manuel Olivares, Fernando Pizarro, Daniel López de Romaña y Miguel Arredondo

El hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu), selenio (Se), yodo (I), cromo (Cr), cobalto (Co), molibdeno (Mo) y manganeso (Mn) son microminerales inequívocamente esenciales para el ser humano. En el caso de otros elementos como el boro, litio, silicio, arsénico y el vanadio, si bien tienen participación en algunos procesos fisiológicos en animales, su esencialidad aún no ha sido demostrada en los seres humanos (1).

Las deficiencias de microminerales se pueden deber a defectos genéticos de su metabolismo o, más frecuentemente, a una condición adquirida que puede ser causada por diferentes situaciones, las que aparecen en la tabla 1.

Las deficiencias de Fe y Zn son las carencias de microminerales más prevalentes a nivel global (2,3). En cambio, la deficiencia de Cu es prevalente sólo en algunos grupos de población (desnutridos, prematuros, ancianos) (4). La carencia de Se es una patología que se observa en regiones en las que existe una baja concentración de este elemento en el suelo, lo que ocasiona su disminución en los vegetales y animales que crecen en dicha zona y por ende, una menor ingesta por la población (5). En este capítulo se analizará la absorción y transporte de Fe, Zn, Cu y Se.

Hierro

El Fe es un nutriente esencial para la vida. Es parte constitutiva de la molécula de hem (anillo de protoporfirina con el Fe fuertemente quelado en su centro) que está presente en la hemoglobina, la mioglobina y algunas enzimas que participan en procesos tales como el transporte y almacenamiento de oxí-

geno, la fosforilación oxidativa, el metabolismo de los neurotransmisores y la síntesis del ADN (6). Las mismas propiedades que hacen del Fe un elemento útil en cada una de estas funciones, también lo hacen tóxico. El Fe libre tiene la capacidad de generar radicales libres que dañan componentes biológicos esenciales tales como los lípidos, las proteínas y el ADN (7). Por lo tanto, la absorción, concentración y el estado redox del Fe deben ser regulados cuidadosamente por el organismo.

La mayor parte de las necesidades de Fe del organismo son suplidas por la reutilización del Fe proveniente de la destrucción de los glóbulos rojos senescentes. El eritrocito tiene una vida media de 120 días, por lo que aproximadamente el 1% del Fe presente en los glóbulos rojos es liberado diariamente. El Fe liberado como producto del catabolismo de la hemoglobina en el sistema reticuloendotelial, se une en el plasma a la transferrina, la proteína transportadora de Fe, la que lo entrega a diversos tipos de células del organismo, entre ellas los precursores eritroides de la médula ósea, en donde es reutilizado en la producción de hemoglobina (8). En el adulto el 95% del Fe empleado en la síntesis de hemoglobina proviene de este reciclaje, mientras que en el lactante de un año este valor es de sólo 70%, haciendo, por lo tanto, que este último sea más dependiente del aporte externo (8).

La homeostasis del Fe es controlada principalmente a nivel de su absorción intestinal, siendo su excreción bastante fija y poco regulada (9). El Fe es absorbido preferentemente a nivel del duodeno y su entrada al enterocito es mediada por una serie de receptores y proteínas ligantes de alta afinidad (10).

Depósitos disminuidos al nacer

- Prematuridad (Fe, Cu)
- Embarazo múltiple (Fe, Cu)
- Transfusión feto materna (Fe)
- Ligadura precoz del cordón (Fe)

Ingesta insuficiente

- Dieta pobre en el micromineral (Fe, Zn, Cu, Se)
- Dieta con baja absorción (Fe, Zn, Cu, ¿Se?)
- Síndromes de malabsorción (Fe, Zn, Cu, ¿Se?)

Requerimientos aumentados

- Crecimiento (Fe, Zn, Cu, ¿Se?)
- Embarazo (Fe, Zn, Cu, ¿Se?)
- Menstruación (Fe)

Pérdidas aumentadas

- Sangrados (Fe)
- Enteroparásitos hematófagos (Fe)
- Diarrea recidivante o crónica (Fe, Zn, Cu, ¿Se?)

Tabla 1. Causas adquiridas de deficiencia de hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu) y selenio (Se).

El Fe se encuentra en la dieta en dos formas que tienen vías de absorción diferentes. La mayor parte se encuentra como Fe no-hem, presente en los alimentos de origen vegetal y en algunos alimentos de origen animal (por ejemplo la leche) y se encuentra mayoritariamente en su forma oxidada (Fe^{+3}), unido a diversas macromoléculas (11). Una proporción menor está presente como Fe hem en las carnes (mioglobina) y la sangre (hemoglobina).

Alrededor de un 50% del Fe no-hem es liberado en el estómago por la acción combinada de la pepsina y el ácido clorhídrico. Por otra parte, el medio ácido gástrico solubiliza el Fe reduciéndolo del estado férrico a ferroso, hecho relevante ya que en estado férrico el mineral es muy poco absorbible. Otros

componentes de la dieta, como el ácido ascórbico, la cisteína y la histidina tienen también la capacidad de reducir el Fe. Por otra parte la enzima DctyB (duodenal cytochrome b) presente en los enterocitos duodenales, posee actividad ferrireductasa (12) y utiliza al ascorbato como donador de electrones. A nivel de la membrana apical del enterocito, el Fe reducido es incorporado al citoplasma mediante el transportador de metales divalentes (DMT1), el que es capaz de transportar Fe^{+2} y otros metales como el Mn^{+2} , Co^{+2} , Cu^{+1} y Ni^{+2} utilizando el gradiente de potencial electroquímico de protones como fuente de energía (Figura 1) (13, 14).

El Fe que ingresó a los enterocitos puede ser transferido a su región basolateral donde es exportado a la circulación a través del transportador ferroportina 1, también denominado IREG1 (15, 16) y entregado a la apotransferrina plasmática previa oxidación del Fe^{+2} a Fe^{+3} por la hefestina (17), una enzima ferroxidasa multicobre homóloga a la ceruloplasmina; alternativamente, puede ser secuestrado por la ferritina (proteína citosólica, reservorio de hierro que puede contener hasta 4.500 átomos de Fe) que lo entrega según los requerimientos del organismo o se pierde en el lumen intestinal cuando el enterocito se descauma (Figura 1) (10, 12).

Se ha postulado que existe una vía de absorción de Fe^{+3} mediada por las proteínas mobilferrina y $\beta 3$ -integrina, que captan esta forma de hierro, lo internalizan y lo transportan al citosol del enterocito (18). El hem proveniente de la hemoglobina y la mioglobina, es liberado por las enzimas pancreáticas en el lumen intestinal (18), e ingresa intacto al enterocito, por lo que no compite con el Fe no-hem por su entrada a las células epiteliales intestinales. Se ha propuesto que el grupo hem podría atravesar la membrana apical mediante un proceso activo, saturable y dependiente de la temperatura, indicativo de la existencia de un transportador (19). El único transportador de hem identificado hasta ahora con estas características, es el denominado hem carrier protein 1 (HCP1) (20). A pesar de la existencia de evidencias que relacionan a HCP1 con el transporte de hem, se ha propuesto que la función principal

del HCP1 sería la de un transportador intestinal de folato (21).

Una vez dentro de la célula, el hem es degradado por el enzima hemo-oxigenasa microsomal, generando CO, biliverdina IX α y Fe⁺² (22). Este último ingresa al pool de Fe intracelular, compitiendo con el Fe no-hem, y comparte los mecanismos de salida hacia la circulación a través de la ferroportina 1 (Figura 1).

Se ha postulado además que parte del hem que ingresa al enterocito desde el lumen intestinal puede ser transportado directamente hacia la circulación sin sufrir degradación por la hemo-oxigenasa.

Existe evidencia de un mecanismo de transporte activo de hem a través de la membrana basolateral del enterocito y se ha sugerido que el FLVCR (Feline Leukemia Virus, subgroup C Receptor) podría participar en los seres humanos como un exportador de hem (23).

A nivel del enterocito, al igual que en las otras células del organismo, el Fe puede ingresar a través de la captura de transferrina circulante por el receptor de transferrina 1 (Rtf), proceso modulado por la interacción de la proteína HFE (human hemochromatosis protein) y la β 2-microglobulina.

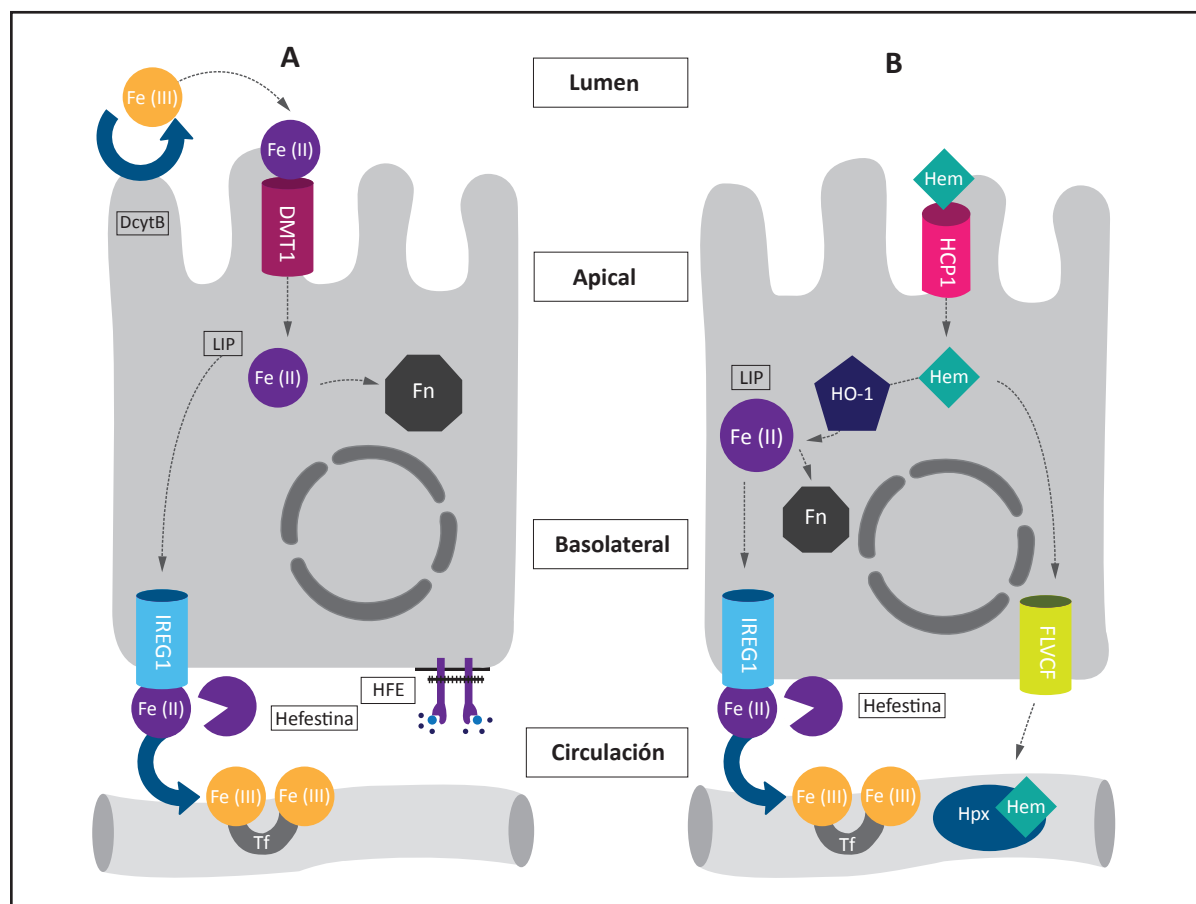


Figura 1. Metabolismo del hierro no hemínico (A) y del hierro hemínico (B) en los enterocitos. Abreviaturas: hierro (Fe), transportador de metales divalentes (DMT1), ferritina (Fn), ferroportina 1 o IREG 1, human hemochromatosis protein (HFE), hemo-oxigenasa (HO-1), hem carrier protein 1 (HCP1), feline leukemia virus, subgroup c receptor (FLVCR) y hemopexina (Hpx).

EL RTf capta dos moléculas de transferrina y tiene mayor afinidad por la transferrina diférrica que por la monoférrica. El complejo RTf-transferrina-Fe es endocitado al citoplasma y el Fe es liberado al interior de la vesícula endocítica, mediante la acidificación de su contenido por una bomba de protones (24). El Fe^{+2} es transportado al citosol de la célula por el DMT1 ubicado en la pared de dicha vesícula. A este nivel el contenido de Fe intracelular modula la actividad de las proteínas reguladoras de hierro (IRP 1 e IRP 2) (10, 24). Tanto el DMT1 como la ferritina y el RTf contienen en su ARN mensajero elementos de respuesta al hierro (IRE) que determinan la cantidad de la proteína que es traducida (12). Cuando el Fe intracelular está disminuido, ambas IRP se unen a los IREs impidiendo, en el caso de la ferritina, su traducción y estabilizando los ARN mensajeros de DMT1 y RTf, lo que aumenta su traducción. Por el contrario, con el aumento del Fe intracelular, los IRPs se disocian de los IREs y el IRP 2 es degradado; esto determina una menor expresión de DMT1 y RTf1 y un aumento de la ferritina (12). Este proceso requiere que el nivel de hierro corporal sea detectado por las células inmaduras de la cripta de Lieberkühn, lo que programa al enterocito maduro para que incremente la absorción de este elemento si los niveles corporales son bajos y que, por el contrario, disminuya su absorción en caso de existir niveles altos. El bloqueo transitorio de la mucosa para absorber Fe no-hem después de una exposición al hierro, pareciera ser un mecanismo adicional en el que existe una modulación de la función del DMT1 en el ribete estriado de la vellosidad intestinal, junto con una redistribución de este transportador hacia compartimentos intracelulares. Hasta hace poco se estimaba que el mecanismo predominante de regulación de la absorción residía en este proceso que ocurría en la mucosa intestinal. Más recientemente se ha determinado que la ferroportina 1 sería el principal punto de regulación de la absorción del Fe de la dieta como respuesta a los requerimientos sistémicos, mientras que la regulación del transporte a nivel apical de los enterocitos serviría de mecanismo de seguridad (25, 26). La hepcidina, péptido

producido en el hígado, produce en el enterocito la internalización y posterior degradación de la ferroportina 1. Esto disminuye la exportación de Fe y por ende causa menor transferencia del Fe a la transferrina plasmática y aumenta la concentración del metal en el enterocito, lo que a su vez conduciría a la inhibición de su captación apical, consecuencia de la disminución de la expresión de DMT1 (25, 26) y un aumento de la pérdida de hierro al lumen por la descamación.

La producción hepática de hepcidina estaría regulada por la saturación de la transferrina, estimándose que el RTf-2 hepático detectaría los niveles circulantes de Fe, de modo que cuando la relación transferrina diférrica/RTf-2 aumenta, se induce la secreción de hepcidina que tiene un papel en la modulación de la producción de la HFE y la hemojuvelina (25, 26). Asimismo, la interleuquina-6 aumenta la producción de hepcidina mientras que la hipoxia y la anemia la reducen (25, 26). Se han descrito unos pocos casos de anemia microcítica hipocroma refractaria al hierro en sujetos con mutaciones del gen *TMPRSS6*, que codifica una serina proteasa transmembrana tipo II que es sintetizada en el hígado y disminuye la expresión de la hepcidina, de modo que los pacientes con esta mutación, cuya hepcidina no es degradada, tienen niveles inapropiadamente altos de esta molécula (27).

Fisiológicamente, el proceso de absorción de Fe es controlado por factores intraluminales, tanto de la mucosa como somáticos (10, 28). Los factores intraluminales más importantes son el tipo de Fe y la presencia de favorecedores o inhibidores de su absorción (Tabla 2). Los factores de la mucosa son la magnitud de su superficie y la motilidad intestinal; los factores somáticos incluyen el estado de los depósitos de Fe, la velocidad de la eritropoyesis y la saturación de oxígeno. Existe una relación inversa entre los depósitos de Fe y la absorción y una relación directa con la velocidad de la eritropoyesis y con la hipoxia (10, 28).

El Fe-hem sólo es afectado por proteínas animales y la soya, que facilitan su absorción al proteger a la molécula (29, 30), y por el calcio, que puede inhi-

Favorecedores
- Carnes (de todo tipo)
- Algunos aminoácidos (histidina, cisteína)
- Ácido ascórbico
- Ácidos orgánicos (láctico, cítrico, málico, tartárico)
- Algunos azúcares (lactosa, fructosa)
Inhibidores
- Fitatos (cereales, leguminosas)
- Polifenoles (té, infusiones de hierbas, vino, semillas, cacao)
- Algunas proteínas (caseína, soya, yema de huevo)
- Algunos minerales (zinc, manganeso)
- Calcio (en presencia de fitatos o caseína)

Tabla 2. Principales facilitadores e inhibidores de la absorción de hierro no-hem.

bir su absorción (31). En cambio, la absorción del Fe no-hem es influenciada por una gran cantidad de factores (32). Disminuyen la absorción de Fe la fibra dietética (33), especialmente la celulosa y la pectina (34), el ácido fítico (35), los polifenoles (36, 37), la caseína (38), el calcio (39) y cationes divalentes como el manganeso y el zinc (40, 41). Favorecen la absorción del Fe no-hem el ácido ascórbico (42), los ácidos orgánicos (42) y compuestos derivados de la digestión de las proteínas de las carnes (43).

Tanto el Fe absorbido como el movilizado desde los depósitos circulan mayoritariamente unidos a la transferrina, que es una glicoproteína sintetizada en el hígado, capaz de unir dos átomos de hierro y que normalmente está saturada en un tercio de su capacidad de transporte (10). Para unirse a la transferrina, el Fe requiere estar en estado férrico, siendo requisitos para esta oxidación la presencia de hefestina en la zona basolateral de los enterocitos y la ceruloplasmina en el plasma. Una pequeña fracción del Fe

circula unida a la seroalbúmina y a otras moléculas de pequeño tamaño. Las células del organismo adquieren el Fe principalmente mediante el RTf y en una proporción muy menor por el DMT1 (24).

De las alteraciones genéticas del metabolismo del Fe, algunas producen sobrecargas de Fe y otras en las que coexisten la anemia con la sobrecarga de Fe.

Hemocromatosis tipo 1 (relacionada con la proteína HFE) o hemocromatosis clásica (44, 45)

Su prevalencia en poblaciones de origen caucásico, es de 1 en 200 a 400 individuos (44). Es un defecto genético autosómico recesivo de penetración variable, debido a una alteración del gen localizado en el locus 6p21.3 que codifica la proteína HFE. En la mutación más frecuente hay una sustitución de la tiro-sina en la posición 282 por una cisteína. Otra mutación menos frecuente es el reemplazo de la histidina en la posición 63 por ácido aspártico. Aún más rara es la mutación en la que la serina en la posición 65 es reemplazada por cisteína. La prevalencia es alta en la población caucásica (10% de heterocigotos y 0.3 a 0.5% de homocigotos).

Hemocromatosis juvenil o tipo 2

Enfermedad genética recesiva muy poco frecuente, de carácter grave y cuyas manifestaciones son principalmente de tipo cardíaco y endocrino que aparece en la adolescencia o en adultos jóvenes (44-46). El tipo 2A corresponde a una alteración del gen de la hemojuvelina, localizado en el locus 1q21, en tanto que el tipo 2B corresponde a una alteración del gen de la hepcidina, localizado en el locus 19q13.1.

Hemocromatosis tipo 3

Se parece a la hemocromatosis tipo 1, es autosómica recesiva y obedece a una alteración del receptor de transferrina 2 ubicado en el locus 7q22 (44-46). Las hemocromatosis 1, 2 y 3 llevan a una disminución de la producción de hepcidina, con el consiguiente aumento de la absorción de Fe y aumento del eflujo de Fe desde los macrófagos, lo que lleva a una sobrecarga de Fe de tipo parenquimatoso, especialmente hepático (45).

Hemocromatosis tipo 4

Es una patología autosómica dominante y corresponde a una alteración del gen de la ferroportina, localizado en el locus 2q32, de la que existen dos variantes (44-46). El tipo 4A, es la variante más frecuente y se acompaña de valores de saturación de la transferrina normales o bajos, a veces acompañados de anemia leve, y de acumulación de Fe en los macrófagos debido a su liberación disminuida desde estas células, mientras que en la variante 4B, la ferroportina es resistente a la acción de la hepcidina y se acompaña de saturación aumentada de la transferrina y de acumulación de Fe en los parénquimas, semejante a las hemocromatosis tipo 1 y 3.

Se ha descrito una sobrecarga de Fe parenquimatoza, muy infrecuente, de herencia autosómica dominante, originada por una mutación del gen que codifica para la cadena pesada de la ferritina, localizado en el locus 11q13 (47).

La atranferrinemia congénita (48) y las mutaciones del DMT1 (49) son patologías autosómicas recesivas bastante infrecuentes, que se acompañan de anemia microcítica hipocroma muy intensa desde el nacimiento, acompañada de sobrecarga parenquimatoza de Fe en hígado, corazón, páncreas, tiroides y riñones.

Entre las patologías infrecuentes, la mutación del gen Tmprss6, localizado en 22q12.3, determina una anemia microcítica hipocroma refractaria a la terapia con Fe, que se acompaña de niveles aumentados de hepcidina, ya que se pierde la función inhibitoria que ejerce este gen sobre la hepcidina (50).

Zinc

El Zn se absorbe a nivel intestinal, mayoritariamente en el duodeno y yeyuno (51). Su transporte dentro del enterocito aún no está enteramente dilucidado, pero existe evidencia de que es un proceso saturable mediado por transportadores específicos. El Zn también puede ser absorbido pasivamente a nivel paracelular, pero sólo cuando la ingesta es elevada (52). Las pérdidas de Zn a nivel gastrointestinal en

las secreciones pancreática, biliar e intestinal corresponden a la mayoría del Zn eliminado del organismo (53). Sin embargo, una alta proporción del Zn secretado al intestino es reabsorbido. Desde el intestino, el Zn absorbido es transferido por vía portal unido mayoritariamente a la albúmina (70%) y a la α -2 macroglobulina (20-40%); existen además otras proteínas capaces de ligar zinc, como la transferrina y una glicoproteína rica en histidina (54).

El intestino juega un papel de suma importancia en el control homeostático del metabolismo de Zn, debido a que este funciona a través de la regulación de la absorción y excreción endógena del Zn proveniente de la alimentación. Hay una relación indirecta entre la cantidad de Zn ingerido y su absorción fraccional, es decir, la proporción del Zn de la dieta que es absorbido, lo cual tiene un impacto directo en la cantidad total que es absorbida (55-57). Por ejemplo, en situaciones en las que ocurre una restricción de la ingesta de Zn, se detecta un aumento de la absorción fraccional de Zn (55, 56), aunque pareciera que este incremento no es una adaptación de largo plazo (58). Sin embargo, aún no se ha definido si la absorción fraccional de Zn está regulada por el estado de la nutrición de Zn del individuo. Por otro lado, se sabe que la excreción de Zn endógeno es regulada en respuesta a los cambios de la ingesta de Zn. En situaciones donde existe una restricción en la ingesta, la excreción endógena disminuye (58, 59). Se han identificado dos familias de proteínas involucradas en el transporte de Zn (60, 61). Las proteínas de la familia ZnT disminuyen la cantidad de Zn en el citoplasma participando en la salida de Zn desde las células o su ingreso a vesículas intracelulares; hasta ahora se han identificado 10 componentes y se ha comprobado la existencia de actividad transportadora en la mayoría de ellas (ZnT1, 2, 4-8). Por otro lado están las proteínas de la familia Zip, de las cuales se han identificado 14; en ocho de ellas se ha comprobado capacidad transportadora (Zip 1-8 y Zip 14), ya que promueven el transporte de Zn desde el líquido extracelular o de las vesículas intracelulares hacia el citoplasma (62).

La regulación de la homeostasis del Zn se produce principalmente a nivel del epitelio intestinal y el tejido pancreático, y es modulada por los transportadores de Zn que se encuentran en estos tejidos. En modelos animales se ha observado que ante una dieta con bajo contenido de Zn, se produce una serie de cambios en la expresión de varios de los transportadores de Zn y de la metalotioneína, una proteína que aparentemente cumple un papel de almacenamiento de Zn a corto plazo dentro del enterocito. La restricción del Zn de la dieta estimula en las ratas la expresión de la proteína Zip4, la cual se moviliza hacia la membrana apical presumiblemente para promover una mayor incorporación del Zn de la dieta al enterocito (62). Asimismo, la expresión de la proteína Zip5, la cual normalmente está localizada en la membrana basolateral del enterocito promoviendo el ingreso de Zn desde el plasma, es reprimida y Zip5 es internalizada y degradada (63). Finalmente, la expresión de la metalotioneína es reprimida (64). Paralelamente, a nivel del tejido pancreático disminuye la expresión de la proteína ZnT1, evitando la salida de Zn de las células acinares del páncreas para su posterior secreción a nivel intestinal (61), y tal como en el enterocito, la proteína Zip5 es internalizada y degradada (62), previniendo el flujo de Zn desde el plasma hacia las células acinares. Como consecuencia de todas estas acciones la absorción de Zn es estimulada y la excreción endógena a nivel intestinal es reprimida.

La acrodermatitis enteropática es un desorden genético poco frecuente en los seres humanos, que es heredado como un trastorno autosómico recesivo. Los signos clínicos incluyen dermatitis, alopecia, anorexia, retardo de crecimiento, pérdida de peso, diarrea intermitente y otras infecciones recurrentes (65). Se ha determinado que los individuos afectados por este desorden pierden la capacidad de absorber Zn a nivel intestinal (66-69). Recientemente se ha descrito que varias mutaciones del gen que codifica la proteína Zip4 explican la malabsorción de Zn observada en los pacientes con acrodermatitis enteropática (70).

La cantidad total de Zn en la alimentación sólo provee una estimación cruda de la ingesta de Zn, pues existen muchos factores dietéticos que afectan su biodisponibilidad (71). El fitato es un potente inhibidor de la absorción de Zn (72, 73); es la sal de magnesio, calcio, o potasio del ácido fítico (mio-inositol hexafosfato), aunque comúnmente se usa el término fitato para referirse tanto a la sal como a la molécula de ácido fítico. El mecanismo que explica el efecto inhibitorio que ejerce el fitato sobre la absorción de Zn se debe a que es un poderoso quelante de minerales. Dado que el fitato no puede ser digerido o absorbido por el intestino humano, los minerales quelados al fitato también pasan a lo largo del tracto gastrointestinal sin ser absorbidos. Se ha sugerido que las dietas cuya relación molar fitato:zinc es mayor de 15-20, están asociadas con malabsorción de Zn (74).

No se sabe con exactitud si el calcio por sí solo inhibe la absorción de Zn. Varios estudios demuestran que añadir calcio a una comida o fórmula infantil no afecta negativamente la absorción de Zn (75-78), aunque un estudio ha demostrado que la ingesta elevada de suplementos de calcio disminuye la absorción neta de Zn (79). Por otra parte, se ha propuesto que la cantidad de calcio en la dieta podría afectar la absorción de zinc en comidas con alto contenido de fitato, debido a la formación de complejos entre el calcio, el fitato y el Zn que son altamente insolubles (71).

Respecto del Fe, Solomons y Jacob observaron que al proveer dosis farmacológicas de Fe y Zn como una solución acuosa (25 mg de Fe y 25 mg de Zn) a seres humanos, se inhibe la absorción de Zn medida por el cambio del nivel de Zn plasmático 4 horas después de ingesta de la dosis, y que existía un efecto dosis-respuesta, con mayor inhibición a mayor cantidad de Fe (80). Sin embargo, pareciera que cuando ambos minerales son administrados en dosis fisiológicas como una solución acuosa, sólo se observa inhibición de la absorción del Zn cuando la relación molar de Fe:Zn es mayor de 25 (81). Por otro lado, esta inhibición desaparece si ambos elementos son ingeridos junto con una comida (81), lo que se debería a la interacción de estos elementos con otros

componentes de la matriz del alimento.

Finalmente, se sabe que tanto la cantidad como el tipo de proteína de la dieta tienen un efecto en la absorción de Zn. A mayor cantidad de proteína mayor absorción de Zn aunque cabe recalcar que las proteínas son una buena fuente de Zn, por lo que a mayor ingesta de proteína mayor la ingesta de Zn. Respecto del tipo de proteína, aquellas de origen animal promueven la absorción de Zn, excepto la caseína que la inhibe (71). La histidina, la metionina y la cisteína tienen un efecto promotor de la absorción (71).

Cobre

El Cu ingresa a las células principalmente a través del Ctr1, que es un transportador de alta afinidad presente en las membranas de todas las células de nuestro organismo (82, 83). El DMT1 también es capaz de transportar Cu (14), aunque tendría un papel menos importante que el de Ctr1 (82).

En la región transGolgi de las células se localizan dos ATPasas tipo P, las que participan en la exportación o secreción de Cu (82, 83). La ATP7A o proteína de Menkes, que depende de un gen ubicado en Xq13.3, tiene después del nacimiento una alta expresión en todas las células excepto las hepáticas, en las que sólo existen trazas de ella (82), mientras la ATP7B o proteína de Wilson, cuyo gen está localizado en 13q.14.3, tiene un alto nivel de expresión en el hígado y el riñón (82).

Una vez que el Cu ingresa a las células, es distribuido por un conjunto de metaloproteínas denominadas chaperonas hacia los distintos organelos, cuproenzimas y ATPasas. La chaperona Atox1 lleva el Cu a la red transGolgi donde lo entrega a la ATP7A o ATP7B: la chaperona CCS entrega el metal a la superóxido dismutasa 1 y 3 y la Cox17 transfiere el Cu en las mitocondrias a las chaperonas Cox 11 o SCO (Synthesis Cytochrome Oxidase) 1 y 2, quienes lo entregan a la citocromo C oxidasa (82, 83). El Cu que no es exportado o que no ha sido incorporado a las cuproenzimas se une a la metalotioneína, una proteína intracelular ligante de metales, o es almacenado en un

compartimento vesicular (83, 84). Recientemente se ha propuesto que el transportador de baja afinidad Ctr2 tendría un papel en la liberación del cobre almacenado en esos compartimentos (84).

El Cu se encuentra en los alimentos predominantemente en su forma oxidada (Cu^{+2}), formando complejos con macromoléculas. A nivel del estómago las enzimas proteolíticas y el ácido clorhídrico disocian estos complejos y solubilizan al mineral, que es absorbido predominantemente a nivel del duodeno; sin embargo, una pequeña fracción puede ser absorbida en el estómago (83). El Cu es absorbido por los enterocitos como Cu^{+1} , postulándose que óxido reductasas presentes en la vellosidad intestinal reducirían el Cu^{+2} a Cu^{+1} , como paso previo a su captación por los transportadores presentes en el ribete estriado de los enterocitos (82). La ATP7A es necesaria para la exportación del mineral por la membrana basolateral hacia la vena porta, donde se une principalmente a la seroalbúmina y en menor proporción a la transcupreína y a aminoácidos (histidina, treonina, cisteína) o a péptidos que contienen estos aminoácidos (83).

El hígado es el órgano encargado de redistribuir el Cu. El Cu plasmático es captado por los hepatocitos a través del transportador Ctr1, siendo controversial la participación del DMT1 (85). Una vez en el citosol, y dependiendo de las necesidades de la célula, el Cu es distribuido por las diferentes chaperonas hacia las distintas cuproenzimas y a la ATP7B; esta última participa en la vía secretora del Cu (82, 83, 85). Para el eflujo de cobre es necesaria la proteína COMMD1, la que interactúa con la ATP7B (82, 85). El Cu es secretado al plasma unido a la ceruloplasmina y es excretado también a los canalículos biliares (82, 83, 85). Una fracción del Cu es almacenada en el hígado unido a la metalotioneína, la superóxido dismutasa y otras proteínas ligantes (83).

La fracción aparente de Cu absorbido varía entre un 15 y un 80% (más frecuentemente entre 40 y 60%) (86). La forma química en la que el Cu se encuentra en el lumen intestinal afecta marcadamente este proceso; a medida que la solubilidad aumenta, la absorción es más eficiente. Los factores que dis-

minuyen la absorción de Cu reducen la solubilidad intraluminal de este mineral y/o compiten con su transporte a través de la mucosa intestinal (86, 87). Favorecen la absorción de Cu las proteínas de origen animal y la histidina (86, 87). Por el contrario, tienen una acción inhibitoria la caseína de la leche de vaca, los fitatos (demostrado en animales), la fructosa, el ácido ascórbico (demostrado en animales) y la presencia de otros metales (Zn, Fe, Ni y Mo) (86, 87). La eliminación del Cu ocurre principalmente por el tracto gastrointestinal. Las pérdidas por el sudor, la menstruación y la orina son mínimas (86). Del Cu excretado por la bilis, sólo un 10-15% es reabsorbido a nivel intestinal (86). Sin embargo, el Cu presente en otras secreciones gastrointestinales probablemente está disponible para su reabsorción.

Alrededor de 90-95% del Cu en el plasma se encuentra unido firmemente a la ceruloplasmina, en tanto que el 5-10% remanente se encuentra unido más laxamente a la seroalbúmina, la transcupreína, y a otros componentes de bajo peso molecular (83).

La regulación de la absorción intestinal y de la excreción de Cu por la bilis es fundamental para la homeostasis de este mineral (88-91). La absorción es el principal mecanismo de control cuando la ingesta de Cu es baja. En esta condición, la fracción absorbida aumenta notablemente y las pérdidas endógenas se reducen (88-90). Por el contrario, cuando la ingesta es elevada, la disminución de la fracción absorbida no previene totalmente la absorción de un exceso de Cu, siendo este exceso entonces eliminado mediante un aumento de la excreción biliar (89-91). La absorción de Cu se adapta más rápidamente a una ingesta baja que ante una ingesta elevada (89, 90). Existen algunas patologías genéticas del metabolismo del Cu, la más frecuente de las cuales es la enfermedad de Wilson (1 x 30.000 individuos), patología autosómica recesiva en la que existe un defecto en el gen que codifica la ATP7B. Esto lleva a una menor tasa de incorporación de Cu a la ceruloplasmina y a una menor excreción de Cu con un progresivo incremento del mineral en diversos órganos, especialmente en el hígado, el sistema nervioso central (especialmente en los ganglios basales), el riñón y

el ojo (92, 93). Este progresivo incremento lleva al daño hepático (cirrosis), la degeneración progresiva de los ganglios basales del cerebro, y la formación de un anillo pigmentado parduzco apreciable en el margen externo de la córnea (anillo de Kayser-Fleischer) debido al depósito de Cu en la membrana de Descemet; además se producen alteraciones de la función tubular renal (92, 93). Su tratamiento precoz con quelantes de Cu y la inhibición de la absorción de Cu mediante dosis farmacológicas de Zn, disminuyen la progresión de la enfermedad (93).

La enfermedad de Menkes es una anomalía genética recesiva y ligada al sexo, bastante poco frecuente (alrededor de 1 x 100.000 – 250.000 nacimientos), en la que existe una anomalía del gen que codifica la ATP7A. Dicha anomalía determina que exista una deficiencia grave de Cu de curso habitualmente fatal que se inicia en el periodo intrauterino, debido a un menor transporte placentario de Cu, y que se exacerba en el período postnatal por la falla de la absorción intestinal de Cu. Se caracteriza por una alteración del crecimiento, pelo ensortijado y quebradizo, hipopigmentación de la piel y cabellos, tortuosidad de las arterias y degeneración neuronal (92, 94). Existen algunas variantes alélicas menos graves, entre las que se encuentra el síndrome del cuerno occipital, que es una forma en que el compromiso neurológico es menos intenso y se acompaña de una protuberancia ósea en la región occipital e hiperlaxitud de la piel y las articulaciones (94). La otra variante de este cuadro es el síndrome de Ehlers-Danlos tipo IX, el que se caracteriza por hiperelasticidad de la piel y las articulaciones (95).

La aceuloplaminemia es una enfermedad extremadamente rara, de herencia autonómica recesiva, en la que existe una anomalía genética del gen que codifica la ceruloplasmina, localizado en 3q21-24, que resulta en la acumulación progresiva de Fe en el sistema reticuloendotelial (92, 96). Por su función oxidasa, la ceruloplasmina es indispensable para la oxidación del Fe, paso indispensable para su unión a la transferrina (92,96). Al reducirse la actividad oxidasa, el Fe no es movilizado y queda bloqueado en el sistema reticuloendotelial. Los sujetos afectados

desarrollan en forma gradual, a partir de la tercera década, diabetes mellitus y neurodegeneración progresiva de la retina y de los ganglios basales cerebrales (92,96). El tratamiento con quelantes de Fe disminuye la progresión de esta enfermedad.

Selenio

El Se es un elemento traza esencial para la salud ya que forma parte de selenoproteínas que participan en el sistema antioxidante, el metabolismo de las hormonas tiroideas y el sistema inmunitario (97). Se han descrito 35 selenoproteínas, las que llevan un residuo de selenocisteína en su sitio activo y de las que sólo ha sido descrita su función en algunas de ellas (97). Entre estas se encuentran las glutatión peroxidadas (GPx), las tioredoxina reductasas, las tironina-5'-deyodasas, la selenoproteína P y la selenoproteína W (97).

Existen cuatro isoformas relevantes de la GPx, enzima fundamental del sistema antioxidante, que es capaz de descomponer el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos de lípidos (97). La GPx-1 o clásica y la GPx-2 o gastrointestinal son intracelulares, la GPx-3 o plasmática es extracelular y la Gpx-4 está asociada con las membranas celulares (97). Todas ellas disminuyen en presencia de deficiencia de Se, pero la GPx-1 hepática y la Gpx-3 son las que resultan más afectadas (97).

La tioredoxina reductasa tiene tres isoformas, las que tienen como sustrato a la tioredoxina y al NADPH como cofactor; contribuye al control del estado redox intracelular protegiendo a la célula del estrés oxidativo. Además participa en la reducción de los nucleótidos durante la síntesis del ADN, la regulación de la expresión génica mediante el control redox de la unión de los factores de transcripción al ADN y la inhibición de la apoptosis (97).

Se han identificado tres tironina-5'-deyodasas: las tipo I y II catalizan la conversión de la tetrayodotironina (T4) en triyodotironina (T3) en la glándula tiroidea, el hígado y el riñón para la tipo I y en la tiroidea, la hipófisis, el sistema nervioso central y el

músculo esquelético para la tipo II. La tipo III cataliza la conversión de T4 a T3 inversa y de T3 a T2, lo que protege al cerebro de los efectos del exceso de hormonas tiroideas. La concentración de T3 plasmático depende principalmente de la deydasa tipo I, mientras la función de la tipo II es convertir la T4 a T3 en los órganos en que esta enzima está presente (97). En la deficiencia de selenio existe una disminución de la proporción T3/T4 sanguínea.

La proteína P participaría en la protección de las células endoteliales de los oxidantes; actualmente existe considerable evidencia de que participa en la entrega del Se hepático a otros tejidos (97, 98).

La proteína W participa en el metabolismo del músculo esquelético y cardíaco (99).

El contenido de Se de los alimentos varía ampliamente dependiendo de la disponibilidad del elemento en el suelo donde crecen los vegetales y se alimentan los animales (100, 101). En los alimentos el Se se encuentra principalmente en forma de selenoaminoácidos, ya que es capaz de sustituir al azufre en algunos aminoácidos y en menor proporción como selenio inorgánico en forma de selenato (SeO₄²⁻) o selenito (SeO₃²⁻) (102). En los vegetales el selenio se encuentra principalmente como selenometionina y selenato, y en menos cuantía como selenito; en una muy baja proporción el Se está unido a la molécula de cisteína formando selenocisteína (102). En los animales la especie química predominante es la selenocisteína, aunque también está presente como Se inorgánico (102).

La absorción del Se ocurre por difusión pasiva, no está regulada y se produce principalmente en el duodeno. El porcentaje de absorción varía entre 50 y 100% dependiendo de la forma química, siendo las selenoproteínas mejor absorbidas que el selenio inorgánico, cuya absorción depende de las características de la dieta (101, 102).

Una vez absorbida la selenometionina, producto de la digestión de las proteínas de los vegetales, sigue diferentes vías (101-103). Puede pasar a integrar el pool de la metionina y de este modo es empleada en la síntesis de selenoproteínas. La selenometionina también puede "trans-selenarse" a selenocisteí-

na. Tanto la selenocisteína proveniente de esta vía, como aquella absorbida desde la dieta se pueden convertir a selenuro de hidrógeno (H_2Se^-) por acción de la selenocisteína β -liasa. Por otra parte, la selenometionina se puede catabolizar a CH_3SeH por acción de la γ -liasa y ser demetilada a H_2Se^- . El Se inorgánico absorbido debe ser reducido mediante su interacción con el glutatión reducido a H_2Se^- , y el selenuro de hidrógeno proveniente de los diversos orígenes antes mencionados se puede convertir en selenofosfato ($HSePO_3^{2-}$) que es utilizado en la síntesis de la selenocisteína (101-103).

La excreción del Se ocurre principalmente por la vía urinaria (como dimetil y trimetil-selenol); también es eliminado por las heces y una fracción inferior al 5% se excreta por vía cutánea o pulmonar (como trimetil-selenol) (101, 103).

El Se circula en el plasma como selenoproteína P (60-80%) y GPx-3 (30%) y menos del 3% unido a compuestos de bajo peso molecular (103, 104). La medición de ambas selenoproteínas es utilizada para la evaluación de la nutrición de Se.

Existen algunas patologías endémicas originadas por el consumo de alimentos cultivados en suelos pobres en Se y observadas en zonas con alta prevalencia de deficiencia de Se. La enfermedad de Keshan es una cardiomiopatía dilatada descrita en regiones de China, en que el contenido de Se de la tierra es muy bajo; afecta preferentemente a niños y mujeres en edad fértil (97). Esta patología ocurre en sujetos deficientes en Se que además presentan una infección por un virus Coxsackie cardiotóxico (105). La deficiencia de Se además de las alteraciones que produce en varios de los sistemas defensivos del organismo, es capaz de aumentar la virulencia de algunos virus (106). La suplementación profiláctica de Se disminuye la incidencia de esta enfermedad, pero no puede revertir la falla cardíaca una vez que esta se ha desarrollado (97, 107). La enfermedad de Kashin-Beck es una osteoartropatía observada en algunas regiones de China, Siberia y Corea del Norte, donde también existe una deficiencia endémica de

Se, y que se hace evidente entre los 5 a 15 años de edad (108). El hallazgo histopatológico más destacado es una degeneración necrótica de los condrocitos. La etiología es multifactorial existiendo, además de la deficiencia de Se otras carencias (de yodo, desnutrición global), posible contaminación de los alimentos con micotoxinas o contaminantes orgánicos en el agua de bebida (109). Los efectos preventivos de la suplementación con Se son controversiales (107, 110). En Africa central se ha descrito una forma de cretinismo mixedematoso endémico causado por una deficiencia combinada de yodo y Se (111).

Referencias

1. WHO/FAO/IAEA. Trace elements in human nutrition and health. Geneva, World Health Organization, 1996.
2. McLean E, Egli I, Cogswell M, de Benoist B, Wojdyla D. Worldwide prevalence of anemia in preschool aged children, pregnant women and non-pregnant women of reproductive age. En: Kraemer K., Zimmermann M.B., editores. Nutritional Anemia. Basel, Switzerland, Sight and Life Press, 2007 (Capítulo 1): 1-18.
3. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG). Technical document #1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. Food Nutr Bull 2004; 25 (suppl 2):S94-204.
4. Olivares M, Araya M, Uauy R. Copper homeostasis in infant nutrition: deficit and excess. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2000; 31:102-111.
5. Semba RD. Selenium. En: Kraemer K., Zimmermann M.B., editores. Nutritional Anemia. Basel, Switzerland, Sight and Life Press, 2007 (Capítulo 12): 189-97.

6. Crichton RR. Inorganic biochemistry of iron metabolism. West Sussex, Ellis Horwood Ltd, 1991.
7. McCord JM. Iron, free radicals, and oxidative injury. *Semin Hematol* 1998; 35:5-12
8. International Anemia Consultative Group (IN-ACG). Iron deficiency in infancy and childhood. A report of the International Anemia Consultative Group. Washington,DC, Nutrition Foundation, 1979:1-49.
9. Finch CA, Huebers H. Perspectives in iron metabolism. *N Engl J Med* 1982; 306:1520-8
10. De Domenico, I McVey Ward D, Kaplan J. Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008; 9:72-81
11. Derman DP, Bothwell TH, Torrance JD, Macphail AP, Bezwoda WR, Charlton RW, Mayet FG. Iron absorption from ferritin and ferric hydroxide. *Scand J Haematol*. 1982; 29:18-24
12. Sharp P, Srai SK. Molecular mechanisms involved in intestinal iron absorption. *World J Gastroenterol*. 2007; 13: 4716-24.
13. Garrick MD, Dolan KG, Horbinski C, Ghio AJ, Higgins D, Porubcin M, Moore EG, Hainsworth LN, Umbreit JN, Conrad ME, Feng L, Lis A, Roth JA, Singleton S, Garrick LM. DMT1: a mammalian transporter for multiple metals. *Biomaterials*. 2003; 16:41-54.
14. Arredondo M, Muñoz P, Mura CV, Núñez MT. DMT1, a physiologically relevant apical Cu¹⁺ transporter of intestinal cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2003; 284:C1525-30.
15. Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, Paw BH, Drejer A, Barut B, Zapata A, Law TC, Brugnara C, Lux SE, Pinkus GS, Pinkus JL, Kingsley PD, Palis J, Fleming MD, Andrews NC, Zon LI. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature*. 2000; 403:776-81.
16. Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem*. 2000; 275:19906-12.
17. Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, Cowley L, Askwith C, Libina N, Gitschier J, Anderson GJ. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet*. 1999; 21:195-199.
18. Conrad ME, Umbreit JN. Iron absorption and transport – an update. *Am J Hematol*. 2000; 64:287-289.
19. Arredondo M, Kloosterman J, Núñez S, Segovia F, Candia V, Flores S, Le Blanc S, Olivares M, Pizarro F. Heme iron uptake by Caco-2 cells is a saturable, temperature sensitive and modulated by extracellular pH and potassium. *Biol Trace Elem Res*. 2008; 125:109-19.
20. Shayeghi M, Latunde-Dada GO, Oakhill JS, Lafatah AH, Takeuchi K, Halliday N, Khan Y, Warley A, McCann FE, Hider RC, Frazer DM, Anderson GJ, Vulpe CD, Simpson RJ, McKie AT. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell*. 2005; 122:789-801.
21. Inoue K, Nakai Y, Ueda S, Kamigaso S, Ohta KY, Hatakeyama M, Hayashi Y, Otagiri M, Yuasa H. Functional characterization of PCFT/HCP1 as the molecular entity of the carrier-mediated intestinal folate transport system in the rat model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008; 294:G660-8.
22. Raffin SB, Woo CH, Roost KT, Price DC, Schmid R. Intestinal absorption of hemoglobin heme iron cleavage by mucosal heme oxygenase. *J Clin Invest*. 1974; 54:1344-1352.

23. West AR, Oates PS. Mechanisms of heme iron absorption: Current questions and controversies. *World J Gastroenterol.* 2008; 14:4101-10.
24. Donovan A, Roy CN, Andrews NC. The ins and outs of iron homeostasis. *Physiology.* 2006; 21:115-123.
25. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood.* 2003; 102:783-788.
26. Kemna EHJM, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica.* 2008; 93:90-97.
27. Guillem F, Lawson S, Kannengiesser C, Westerman M, Beaumont C, Grandchamp B. Two nonsense mutations in the Tmprss6 gene in a patient with microcytic anemia and iron deficiency. *Blood.* 2008; 112:2089-2091.
28. Cook JD. Adaptation in iron metabolism. *Am J Clin Nutr.* 1990;51:301-8
29. Layrisse M, Martinez-Torres C. Model for measuring dietary absorption of heme iron: test with a complete meal. *Am J Clin Nutr.* 1972; 25:401-411.
30. Lynch SR, Dassenko SA, Morck TA, Beard JL, Cook JD. Soy protein products and heme iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1985; 41:13-20.
31. Hallberg L, Rossander-Hulthén L, Brune M, Gleerup A. Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. *Br J Nutr.* 1993; 69:533-540.
32. Finch, CA, Huebers, HA. Iron absorption. *Am J Clin Nutr.* 1988;47:102-7
33. Simpson, KM, Morris, ER, Cook, JD. The inhibitory effect of bran on iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34:1469-1478.
34. Baig MM, Burgin CW, Cerda JJ. Effect of dietary pectin on iron absorption and turnover in the rat. *J Nutr.* 1983; 113:2615-2622.
35. Cook JD, Morck TA, Lynch SR. The inhibitory effect of soy products on nonheme iron absorption in man. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34:2180-4
36. Disler PB, Lynch SR, Charlton RW, Torrance JD, Bothwell TH. The effect of tea on iron absorption. *Gut.* 1975; 16:193-200.
37. Pizarro F, Olivares M, Chadud P, Stekel A. Efecto de la canela y el té sobre la absorción de hierro no hemínico. *Rev Chil Nutr.* 1988; 318-23
38. Hurrell R, Lynch SR, Trinidad TP, Dassenko SA, Cook JD. Iron absorption in humans as influenced by bovine milk proteins. *Am J Clin Nutr.* 1989; 49:546-552.
39. Hallberg L. Does calcium interfere with iron absorption? *Am J Clin Nutr.* 1998; 68:3-4.
40. Rossander-Hultén L, Brune M, Sandström B, Lonnerdal B, Hallberg L. Competitive inhibition of iron absorption by manganese and zinc in humans. *Am J Clin Nutr.* 1991; 54:152-6.
41. Olivares M, Pizarro F, Ruz M. New insights about iron bioavailability inhibition by zinc. *Nutrition.* 2007; 23:292-5
42. Teucher B, Olivares M, Cori H. Enhancers of iron absorption: ascorbic acid and other organic acids. *Int J Vitam Nutr Res.* 2004; 74:403-419.
43. Layrisse M, Martinez-Torres C, Leets I, Taylor P, Ramirez J. Effect of histidine, cysteine, glutathione or beef on iron absorption in humans. *Brit J Nutr.* 1984;52:37-46.
44. Franchini M. Hereditary iron overload: update on pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Am J Hematol.* 2006; 81:202-9.

45. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis. *Biochim Biophys Acta*. 2006; 1763:700-10.
46. Subramaniam N. Non-HFE haemochromatosis. *World J Gastroenterol*. 2007; 13: 4690-8.
47. Kato J, Fujikawa K, Kanda M, Fukuda N, Sasaki K, Takayama T, Kobune M, Takada K, Takimoto R, Hamada H, Ikeda T, Niitsu Y. A mutation, in the iron-responsive element of H ferritin mRNA, causing autosomal dominant iron overload. *Am J Hum Genet*. 2001; 69:191-7.
48. Beutler E, Gelbart T, Lee P, Trevino R, Fernandez MA, Fairbanks VF. Molecular characterization of a case of atransferrinemia. *Blood*. 2000; 96:4071-4.
49. Iolascon A, Camaschella C, Pospisilova D, Piscopo C, Tchernia G, Beaumont C. Natural history of recessive inheritance of DMT1 mutations. *J Pediatr*. 2008; 152:136-9.
50. Melis MA, Cau M, Congiu R, Sole G, Barella S, Cao A, Westerman M, Cazzola M, Galanello R. A mutation in the Tmprss6 gene, encoding a transmembrane serine protease that suppresses hepcidin production, in familial iron deficiency anemia refractory to oral iron. *Haematologica*. 2008; 93:1473-9.
51. Lee HH, Prasad AS, Brewer GJ, Owyang C. Zinc absorption in human small intestine. *Am J Physiol*. 1989; 256:G87-G91.
52. Lonnerdal B. Intestinal absorption of zinc. *Zinc in Human Biology*, Mills CF editores. London, Springer-Verlag, 1989:33-55.
53. Krebs NF. Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *J Nutr*. 2000; 130:1374S-77S.
54. Cousins RJ. Zinc. En: Filer LJ, Ziegler EE, editores. *Present knowledge in nutrition*. Washington, DC, ILSI, Nutrition Foundation, 7a edición. 1996:293-306.
55. Istfan NW, Janghorbani M, Young MR. Absorption of stable ^{70}Zn in healthy young men in relation to zinc intake. *Am J Clin Nutr*. 1983; 38:187-94.
56. Jackson MJ, Jones DA, Edwards RHT, Swainbank IG, Coleman ML. Zinc homeostasis in man: studies using a new stable isotope-dilution technique. *Br J Nutr*. 1984; 51:199-208.
57. Sian L, Hambidge KM, Westcott JL, Miller LV, Fennessey PV. Influence of a meal and incremental doses of zinc on changes in zinc absorption. *Am J Clin Nutr*. 1993; 58:533-6.
58. Sian L, Mingyan X, Miller LV, Tong L, Krebs NF, Hambidge KM. Zinc absorption and intestinal losses of endogenous zinc in young Chinese women with marginal zinc intakes. *Am J Clin Nutr*. 1996; 63:348-53.
59. Lee DY, Prasad AS, Hydrick-Adair C, Brewer G, Johnson PE. Homeostasis of zinc in marginal human zinc deficiency: role of absorption and endogenous excretion of zinc. *J Lab Clin Med*. 1993;122:549-56.
60. Palmiter RD and Huang L. Efflux and compartmentalization of zinc by members of the SLC30 family of solute carriers *Eur J Physiol*. 2004;447:744-51.
61. Liuzzi JP, Cousins RJ. Mammalian zinc transporters. *Annu Rev Nutr*. 2004; 24:151-72.
62. Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten LA. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *J Biol Chem*. 2006; 281:24085-9.

63. Weaver BP, Dufner-Beattie J, Kambe T, Andrews GK. Novel zinc-responsive post-transcriptional mechanisms reciprocally regulate expression of the mouse Slc39a4 and Slc39a5 zinc transporters (Zip4 and Zip5). *Biol Chem.* 2007; 388:1301-12.
64. Szczurek EI, Bjornsson CS, Taylor CG. Dietary zinc deficiency and repletion modulate metallothionein immunolocalization and concentration in small intestine and liver of rats. *J Nutr.* 2001; 131:2132-8.
65. Van Wouwe JP. Clinical and laboratory diagnosis of acrodermatitis enteropathica. *Eur J Pediatr.* 1989; 149:2-8.
66. Barnes PM, Moynahan EJ. Zinc deficiency in acrodermatitis enteropathica: multiple dietary intolerance treated with synthetic diet. *Proc R Soc Med.* 1973; 66:327-9.
67. Lombeck T, Schnippering HG, Ritzl F, Feinendegen LE, Bremer HJ. Absorption of zinc in acrodermatitis enteropathica. *Lancet.* 1975; 1:855.
68. Weismann K, Hoe S, Knudsen L, Sorensen SS. Zinc absorption in patients suffering from acrodermatitis enteropathica and in normal adults assessed by whole-body counting technique. *Br J Dermatol.* 1979; 101:573-9.
69. Van den Hamer CJA, Cornelisse C, Hoogenraad TU, Van Wouwe JP. Use of ^{69m}Zn loading test for monitoring of zinc malabsorption. En: Mills CF, Brenner I, Chesters JK, editores. Trace elements in man and animals: TEMA 5 : proceedings of the fifth International Symposium on Trace Elements in Man and Animals. Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough UK, 1985:689-91.
70. Wang K, Zhou B, Kuo YM, Zemansky J, Gitschier J. A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica. *Am J Hum Genet.* 2002; 71:66-73.
71. Lonnerdal B. Dietary effects affecting zinc absorption. *J Nutr.* 2000; 130:1378S-83S.
72. O'Dell BL. Effect of dietary components upon zinc bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 1969; 22:1315-22.
73. Lonnerdal B, Bell JG, Hendrickx AG, Burns RA, Keen CL. Effect of phytate removal on zinc absorption from soy formula. *Am J Clin Nutr.* 1988; 48:1301-6.
74. Turnlund JR, King JC, Keyes WR, Gong B, Michel MC. A stable isotope study of zinc absorption in young men: effects of phytate and alpha-cellulose. *Am J Clin Nutr.* 1984; 40:1071-7.
75. Lonnerdal B, Cederblad A, Davidsson L, Sandstrom B. The effect of individual components of soy formula and cow's milk formula on zinc bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 1984; 40:1064-70.
76. Spencer H, Kramer L, Norris C, Osis D. Effect of calcium and phosphorus on zinc metabolism in man. *Am J Clin Nutr.* 1984; 40:1213-8.
77. Dawson-Hughes B, Seligson FH, Hughes VA. Effects of calcium carbonate and hydroxyapatite on zinc and iron retention in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 1986; 44:83-8.
78. McKenna AA, Ilich JZ, Andon MB, Wang C, Matkovic V. Zinc balance in adolescent females consuming a low- or high-calcium diet. *Am J Clin Nutr.* 1997; 65:1460-4.
79. Wood RJ, Zheng JJ. High dietary calcium intakes reduce zinc absorption and balance in humans. *Am J Clin Nutr.* 1997; 65:1803-9.
80. Solomons NW, Jacob RA. Studies on the bioavailability of zinc in humans: effects of heme and nonheme iron on the absorption of zinc. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34:475-82.

81. Sandstrom B, Davidsson L, Cederblad A, Lonnerdal B. Oral iron, dietary ligands and zinc absorption. *J Nutr.* 1985; 115:411-4.
82. Prohaska JR. Role of copper transporters in copper homeostasis. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88:826S-9S.
83. Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology. Copper. *Biomed Pharmacother.* 2003; 57:386-98.
84. Vonk WIM, Wijmenga C, van de Sluis B. Relevance of animal models for understanding mammalian copper homeostasis. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88:840S-5S.
85. Roberts EA, Sarkar B. Liver as a key organ in the supply, storage, and excretion of copper. *Am J Clin Nutr.* 2008;88: 851S-4S.
86. Olivares M, Araya M, Uauy R. Copper homeostasis in infant nutrition: deficit and excess. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000; 31:102-11.
87. Wapnir RA. Copper absorption and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 1998; 67:1054S-60S.
88. Turnlund JR, Keyes WR, Anderson HL, Accord LL. Copper absorption and retention in young men at three levels of dietary copper by use of stable isotope ⁶⁵Cu. *Am J Clin Nutr.* 1989; 49:870-8.
89. Turnlund JR, Keyes WR, Peiffer GL, Scott KC. Copper absorption, excretion, and retention by young men consuming low dietary copper determined by using the stable isotope ⁶⁵Cu. *Am J Clin Nutr.* 1998; 67:1219-25.
90. Turnlund JR, Keyes WR, Kim SK, Domek JM. Long-term high copper intake: effects on copper absorption, retention, and homeostasis in men. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81:822-8.
91. Harvey LJ, Majsak-Newman G, Dainty JR, Lewis DJ, Langford NJ, Crews HM, Fairweather-Tait SJ. Adaptive responses in men fed low- and high-copper diets. *Br J Nutr.* 2003; 90:161-8.
92. Madsen E, Gitlin JD. Copper and iron disorders of the brain. *Annu Rev Neurosci.* 2007; 30:317-37.
93. Ala A, Walker AP, Ashkan K, Dooley JS, Schilsky ML. Wilson's disease. *Lancet.* 2007;369: 397-408.
94. Desai V, Kaler SG. Role of copper in human neurological disorders. *Am J Clin Nutr.* 2008;88: 855S-8S
95. Kuivaniemi H, Peltonen L, Kivirikko KI. Type IX Ehlers-Danlos syndrome and Menkes syndrome: the decrease in lysyl oxidase activity is associated with a corresponding deficiency in the enzyme protein. *Am J Hum Genet.* 1985; 37:798-808.
96. Harris ZL, Klomp LWJ, Gitlin JD. Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis. *Am J Clin Nutr.* 1998; 67:972S-7S.
97. Moghadaszadeh B, Beggs AH. Selenoproteins and their impact on human health through diverse physiological pathways. *Physiology.* 2006; 21:307-15.
98. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein Metabolism and Function: Evidence for more than one function for selenoprotein P. *J Nutr.* 2003; 133:1517S-20S.
99. Hardy G, Hardy I: Selenium: The Se-XY nutraceutical. *Nutrition.* 2004; 20:590-3.
100. Dumont E, Vanhaecke F, Cornelis R, Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Anal Bioanal Chem.* 2006; 385:1304-23.

101. Finley JW. Bioavailability of selenium from foods. *Nutr Rev* 2006;64:146-51.
102. Rayman MP, Goenaga Infante H, Sargent M. Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. *Brit J Nutr*. 2008; 100: 238-53.
103. Manzanares Castro W. Selenio en los pacientes críticos con respuesta inflamatoria sistémica. *Nutr. Hosp.* 2007; 22: 295-306.
104. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein Metabolism and Function: Evidence for more than one function for selenoprotein P. *J Nutr*. 2003; 133:1517S-20S.
105. Ren LQ, Li XJ, Li GS, Zhao ZT, Sun B, Sun F. Coxsackie virus B3 infection and its mutation in Keshan disease. *World J Gastroenterol*. 2004; 10:3299-302
106. Beck MA, Levander OA, Handy J. Selenium deficiency and viral infection. *J Nutr*. 2003; 133:1463S-7S.
107. Ge K, Yang G. The epidemiology of selenium deficiency in the etiological study of endemic diseases in China. *Am J Clin Nutr*. 1993; 57:259S-63S.
108. Sokoloff L. The history of Kashin-Beck disease. *N Y State J Med* 1989; 89:343-51. [Erratum, *N Y State J Med* 1989;89:486.]
109. Suetens C, Moreno-Reyes R, Chasseur C, Mathieu F, Begaux F, Haubruge E, Durand MC, Nève J, Vanderpas J. Epidemiological support for a multifactorial aetiology of Kashin-Beck disease in Tibet. *Int Orthop*. 2001; 25:180-7.
110. Zou K, Liu G, Wu T, Du L. Selenium for preventing Kashin-Beck osteoarthropathy in children: a meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008 [Epub ahead of print].
111. Köhrle J. Selenium and the control of thyroid hormone metabolism. *Thyroid*. 2005; 15:841-53.

Absorción y transporte de vitaminas

Daniel López de Romaña, Gabriela Durán

Las vitaminas son compuestos orgánicos presentes en la dieta y que, en pequeñas cantidades, son esenciales para el normal funcionamiento del organismo. Estos compuestos se clasifican usualmente de acuerdo con su solubilidad en liposolubles (vitaminas A, D, E y K) e hidrosolubles (vitamina C y vitaminas del complejo B). Las funciones generales de las vitaminas son como estabilizadores de membranas (vitamina E), hormonas (vitaminas A y D), donantes o aceptadores de electrones (vitaminas E, K, C, niacina, riboflavina y ácido pantoténico) y, mayoritariamente, como coenzimas de procesos metabólicos (vitaminas A, K, C, y del complejo B).

En este capítulo se describirán los mecanismos de absorción y transporte a nivel del enterocito de las vitaminas liposolubles D y K y de las hidrosolubles tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, biotina, ácido pantoténico, folato y vitamina B₁₂.

Vitaminas liposolubles

Vitamina D

La vitamina D se encuentra naturalmente en muy pocos alimentos y es fotosintetizada en la piel de los vertebrados por la acción de la radiación ultravioleta (1). Esta vitamina puede encontrarse en la naturaleza en varias formas, de las cuales las más relevantes son el ergocalciferol (vitamina D₂) y el colecalciferol (vitamina D₃) (2). El primero se encuentra en levaduras y esteroides vegetales (ergosteroides), mientras que el colecalciferol se origina del 7-dehidro-colesterol, un precursor del colesterol. Ambas formas de la vitamina, D₂ o D₃ son biológicamente inertes por lo que requieren dos hidroxilaciones, que ocurren

en el hígado y el riñón, para formar 1,25-dihidroxitamina D (1,25[OH]₂D), la hormona biológicamente activa en el organismo (3, 4).

La función biológica más importante de la vitamina D en los seres humanos es mantener las concentraciones séricas de calcio y fósforo dentro de los rangos normales. Esto lo logra mejorando la eficiencia de la absorción de estos minerales provenientes de la dieta a nivel del intestino delgado (3, 4). Por otro lado, cuando la ingesta dietética de calcio es insuficiente para cubrir los requerimientos, la 1,25(OH)₂D, en conjunto con la hormona paratiroidea, estimula la diferenciación de células madre de la médula ósea hacia osteoclastos maduros, los que movilizan calcio del hueso (1). Se ha observado que muchos otros tejidos y células del organismo reconocen a la 1,25(OH)₂D (5). A pesar de que se desconoce la función exacta de la vitamina en el cerebro, páncreas, células mononucleares, linfocitos y piel, esta vitamina ha sido identificada como una hormona con potente acción antiproliferativa y favorecedora de la diferenciación celular (6-8).

Tradicionalmente es aceptado que la vitamina D es absorbida en el intestino delgado por difusión pasiva no saturable, dependiente de su solubilización en el seno de micelas y por lo tanto, las sales biliares juegan un papel importante en este proceso (9). Su absorción es más rápida en las porciones proximales del intestino delgado (duodeno y yeyuno), pero debido al mayor tiempo de tránsito de los alimentos en la porción distal del intestino, es probablemente aquí donde ocurre la absorción de la mayor parte de la vitamina D ingerida (9). Al igual que otras sustancias hidrofóbicas absorbidas en los mamíferos por

difusión pasiva dependiente de micelas, la vitamina D entra a la circulación linfática predominantemente asociada con quilomicrones. La eficiencia de este proceso de absorción parece ser cercana a 50% en el caso de la vitamina D (9).

Un estudio reciente demostró, inicialmente en células Caco-2 y células HEK y posteriormente *ex vivo* en explantes intestinales de ratón, y finalmente *in vivo* en dichos animales, que la absorción intestinal de la vitamina D no ocurriría sólo por difusión pasiva sino que intervendrían también algunos transportadores de membrana tales como SR-BI (Scavenger Receptor class B type I), CD36 (Cluster Determinant 36) o NPC1L1 (Niemann-Pick C1 Like 1), (10). Se ha descrito que estos transportadores participan en el transporte de colesterol a nivel intestinal, cuya estructura de esterol es similar (10). Este descubrimiento abre la puerta a nuevas investigaciones al respecto.

Vitamina K

Existen dos formas naturales de vitamina K: la filoquinona se encuentra en vegetales, especialmente de hojas verdes, y en aceites vegetales (11, 12), mientras que las menaquinonas son sintetizadas por bacterias de la microflora intestinal (13).

La vitamina K actúa como cofactor en la carboxilación post-transcripcional de residuos de glutamato a gama-carboxiglutamato en diversas proteínas. Existen siete proteínas dependientes de la vitamina K que participan en la coagulación sanguínea: la protrombina (factor II), los factores VII, IX y X y las proteínas C, S y Z. Adicionalmente existen dos proteínas dependientes de la vitamina K: la osteocalcina y la proteína ácida gama-carboxiglutámico de la matriz del tejido conectivo que junto con la proteína S actúan en el tejido óseo. Finalmente, la proteína Gas6 está expresada en numerosos tejidos blandos e interviene en la regulación del ciclo celular.

La filoquinona es absorbida en el yeyuno y el íleon mediante un proceso que depende de la presencia de bilis y secreciones pancreáticas, y que aumenta con la presencia de grasa en la dieta (14). Una vez absorbida, la filoquinona es secretada con los quilomicrones hacia la linfa. La biodisponibilidad de la filoquinona administrada como suplemento es bas-

tante mayor que cuando forma parte de un alimento (15, 16). No existen diferencias en la absorción de cantidades similares de filoquinona proveniente de diferentes fuentes de vegetales (espinaca, brócoli o lechuga), y la cocción del alimento tampoco parece tener efecto (16). Sin embargo, su absorción se triplica si se agrega grasa al alimento (15).

Algunas bacterias sintetizan grandes cantidades de menaquinonas en el intestino grueso. Estudios en humanos han demostrado que las menaquinonas pueden ser absorbidas a nivel de este segmento del intestino (17), aunque parecería que su biodisponibilidad es limitada (13). Se desconoce el grado de contribución de las menaquinonas al estado de la nutrición de vitamina K de los seres humanos (13).

Vitaminas hidrosolubles

La Figura 1 muestra una representación esquemática de la localización en la superficie del enterocito de la expresión de los transportadores de algunas de las vitaminas hidrosolubles.

Tiamina

La tiamina o vitamina B₁ actúa como co-enzima en diversas reacciones involucradas en el metabolismo energético. La principal forma funcional de la tiamina, con actividad de cofactor, es el pirofosfato de tiamina (TPP), también conocido como cocarboxilasa. Este compuesto es sintetizado por la enzima pirofosfoquinasa a partir de tiamina libre, magnesio y ATP. Las principales enzimas que requieren tiamina como cofactor están involucradas en el metabolismo de carbohidratos, tales como la piruvato deshidrogenasa, la α -cetoglutarato deshidrogenasa y la transacetolasa. Asimismo, la deshidrogenasa cetoácida de cadena ramificada que está involucrada en el metabolismo de aminoácidos de cadena ramificada, también requiere de la tiamina como cofactor. La tiamina ejerce además funciones en el sistema nervioso: existe evidencia que indica que en forma de trifosfato de tiamina (TTP), la tiamina ejercería funciones sobre la actividad de la membrana de las neuronas y los potenciales de acción, aunque esto no está dilucidado totalmente (18). Sin embargo, el requerimien-

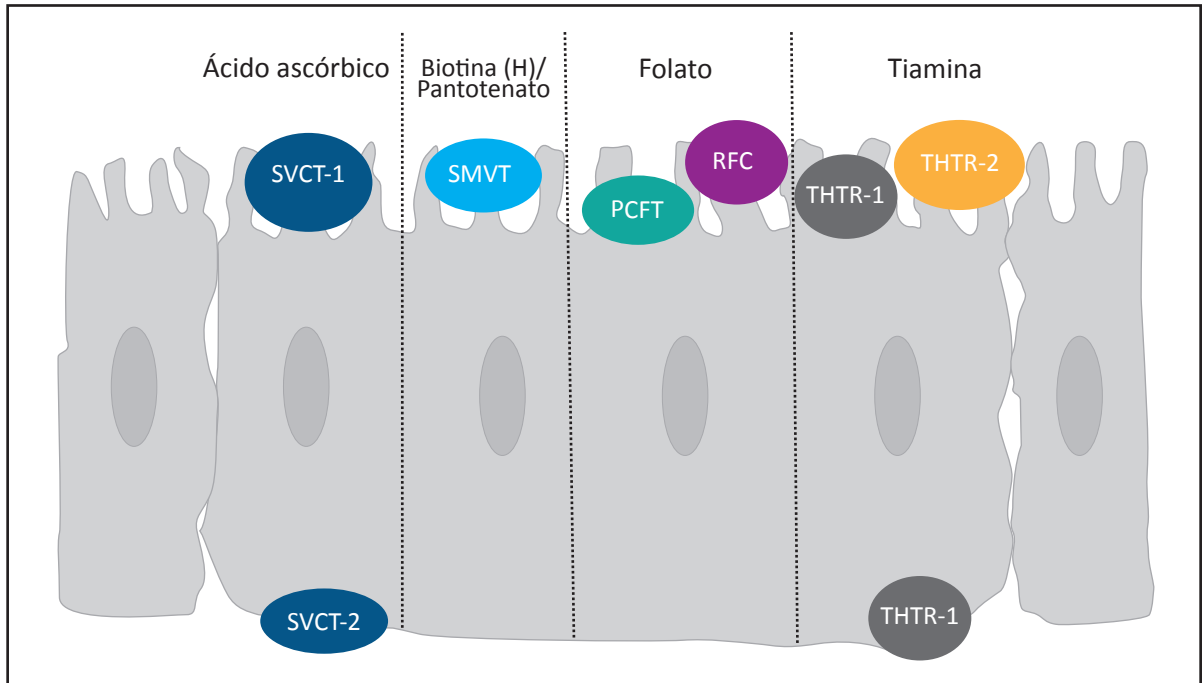


Figura 1. Localización de la expresión de transportadores de vitaminas hidrosolubles en el enterocito.

to de tiamina por el tejido nervioso ha sido demostrado de manera indiscutible, ya que los síntomas de su deficiencia son principalmente neurológicos (9). La tiamina puede provenir de fuentes dietéticas o bacterianas. La tiamina se encuentra mayoritariamente en forma fosforilada en los alimentos y es liberada para su absorción en la parte proximal del intestino delgado por la acción de fosfatasa (19). Por otro lado, el organismo también puede obtener tiamina a partir de la microflora del intestino grueso (20), la cual aparentemente puede ser absorbida en esta región del tubo digestivo (21). Más del 50% de la tiamina de origen bacteriano se encuentra en forma libre (22, 23) y puede ser absorbida como tal (19). No se conoce con certeza cuanto estaría contribuyendo esta fuente a la satisfacción de los requerimientos totales de tiamina del organismo, pero se cree que cumple un papel importante, especialmente para la nutrición de los colonocitos (19). La absorción de la tiamina de los alimentos ocurre

principalmente en el yeyuno. Cuando se ingiere esta vitamina en bajas concentraciones, su absorción ocurre mediante un proceso de transporte activo saturable y específico, mientras que en presencia de mayores concentraciones, la absorción se produce por difusión pasiva, la cual es menos eficiente que el transporte activo. Esto representaría una forma de regulación de su absorción frente a aumentos de las dosis de tiamina administradas (24-26).

La tiamina puede ser destruida por la presencia de sulfitos, tiaminasas u otros compuestos con efectos antitiamina presentes en los alimentos. Las tiaminasas se encuentran principalmente en pescados y mariscos, helechos y algunas bacterias. Estas enzimas son termolábiles, por lo que su efecto es destruido en los alimentos tratados térmicamente. Finalmente, algunos flavonoides (quercetina y rutina) también pueden actuar como antagonistas de la tiamina y se cree que el grupo hem de las carnes puede actuar como un quelante para esta tiamina (9).

El mecanismo de transporte activo de la tiamina es más activo en las regiones proximales del intestino delgado; se han identificado dos transportadores como los principales involucrados en su absorción intestinal: hTHTR-1 (human thiamin transporter-1, producto del gen SLC 19A2) y hTHTR-2 (human thiamin transporter-2, producto del gen SLC 19A3) (Figura 1). El hTHTR-1 está expresado en cantidades significativamente mayores que el hTHTR-2 (19). Ambos transportadores tienen similitudes estructurales entre sí y con el transportador de folato hRFC. Sin embargo, los transportadores de tiamina no transportan folato y el transportador de folato no transporta tiamina. Por otro lado, hTHTR-1 funciona en rangos micromolares mientras que hTHTR-2 funciona en rangos nanomolares. La proteína de hTHTR-1 se expresa tanto en la membrana apical como en la membrana basolateral del enterocito, no así hTHTR-2, que está expresado solamente en la membrana apical de estas células (27, 28). Ambos transportadores explican el total de la absorción de tiamina mediada por transportadores (28).

La absorción de la tiamina puede ser regulada por factores o condiciones extracelulares o intracelulares a través de la vía transcripcional y/o mecanismos post-transcripcionales. La captación de la tiamina presente en el lumen intestinal es regulada adaptativamente por su nivel en la dieta. Así, la deficiencia de tiamina induce específicamente la captación intestinal de tiamina (26, 29); este efecto se ha asociado con un proceso de inducción significativa del nivel de expresión de THTR-2 (pero no THTR-1) y un aumento de la actividad del promotor de SLC19A3 (pero no de SLC19A2), lo cual sugiere que esta regulación se estaría produciendo a nivel transcripcional (29). Este proceso también es regulado durante las etapas tempranas de la vida, con una disminución en la captación de tiamina a nivel del enterocito durante la maduración (30). Esta disminución de la absorción ha sido asociada con una reducción de la expresión de hTHTR-1 y hTHTR-2 y una disminución de la actividad de los promotores de SLC 19A2 y SLC 19A3 en el intestino delgado de ratones transgénicos que poseen dichos genes (30). Esto sugiere que

en este periodo la regulación también ocurriría a nivel transcripcional.

El proceso mismo de absorción de la tiamina también experimenta procesos de regulación dependientes de la diferenciación celular (31). Esta regulación ha sido asociada con un aumento significativo de la expresión de hTHTR-1 y hTHTR-2 y de la actividad de sus respectivos promotores (31). Por otro lado, este proceso sería regulado mediante vías intracelulares específicas, como por ejemplo una vía mediada por el complejo calcio/calmodulina (32, 33).

El alcoholismo crónico produce deficiencia de tiamina y existe evidencia de que esto ocurre a causa de la inhibición de su absorción intestinal (34) y de una disminución de su reabsorción renal (35). Asimismo, se ha observado que en animales con enfermedad renal crónica se produce una disminución de la expresión de THTR-1 y THTR-2 a nivel del intestino delgado (36). Por otro lado, la infección por *Escherichia coli* enteropatogénica afecta la absorción intestinal de tiamina por células Caco-2, y tiene un efecto negativo tanto en la función y expresión de los transportadores hTHTR-1 y hTHTR-2, como en la tasa de transcripción de los genes respectivos (37).

Riboflavina

La principal función de la riboflavina es servir como precursora para las coenzimas flavín mononucleótido (FMN) y flavín adenín dinucleótido (FAD). Estas flavoproteínas o flavoenzimas catalizan numerosas reacciones de óxido-reducción que incluyen reacciones de deshidrogenación, hidroxilación, descarboxilación oxidativa, desoxigenación y reducción del oxígeno a peróxido de hidrógeno. Participan asimismo, en el metabolismo de los hidratos de carbono, aminoácidos y lípidos. El FAD es necesario para las reacciones de la cadena respiratoria por lo que resulta esencial para la producción de ATP. Una de las enzimas que requieren FAD es la glutatión-reductasa por lo que esta vitamina tiene además actividad antioxidante. Por otro lado, la riboflavina, en conjunto con las enzimas del citocromo P-450, participa en el metabolismo de diversos fármacos. Esta vitamina participa también en la conversión del ácido fólico y la vitamina B₆ a sus formas activas.

Al igual que la tiamina, la riboflavina puede provenir de dos fuentes: de la alimentación o de la microflora bacteriana. La riboflavina de origen bacteriano es generada por la microflora del intestino grueso (20) y es absorbida en este mismo segmento del tubo digestivo (21). Se ha observado que la síntesis de riboflavina bacteriana depende de la dieta, siendo mayor después de una alimentación basada en productos de origen vegetal que después de una dieta basada en alimentos de origen animal (38). La contribución de la riboflavina de origen bacteriano en la homeostasis del total de la riboflavina del organismo no se conoce aunque se sabe que el intestino grueso es capaz de absorber la riboflavina presente en el lumen, ya que los colonocitos poseen un mecanismo eficiente para su captación (39). Aunque en la dieta puede existir riboflavina libre, esta se encuentra mayoritariamente formando parte de las coenzimas FMN y FAD. Para que se produzca su absorción, la vitamina debe ser hidrolizada previamente a riboflavina libre; este proceso incluye la participación de enzimas como la FAD-pirofosfatasa, que convierte FAD en FMN, y la FMN-fosfatasa que convierte al FMN en riboflavina libre (40).

La absorción de la riboflavina ocurre en el intestino delgado proximal. Diversos estudios han caracterizado un eficiente mecanismo de captación de la riboflavina mediado por transportadores específicos presentes en la membrana apical de los enterocitos e independientes de la presencia del ion sodio (41-43). Otros estudios han detectado que el proceso de salida de la riboflavina desde el enterocito se produce a nivel de la membrana basolateral y también es mediado por transportadores específicos (43). A los transportadores involucrados en dichos procesos se les ha denominado RFT-1 (riboflavin transporter-1) y RFT-2 (riboflavin transporter-2), productos de los genes NM_017986 y NM_033409, respectivamente. Ambos transportadores están expresados en el intestino delgado, aunque la expresión de RFT-2 es significativamente mayor que la de RFT-1 (44). Además, hRFT-2 (human RFT-2) sería más eficiente que RFT-1 (44). Pese a que la riboflavina que ingresa al

enterocito lo hace en forma libre, la vitamina es rápidamente fosforilada en el citoplasma por la enzima flavoquinasa formando nuevamente FMN. En consecuencia, la riboflavina puede ser liberada a la circulación portal, ya sea en su forma libre o como FMN.

El proceso de absorción de la riboflavina puede ser regulado por factores o condiciones tanto extracelulares como intracelulares. En primer lugar, la captación intestinal de riboflavina es regulada por fenómenos de adaptación a los niveles de sustrato extracelulares; en estudios en el epitelio intestinal, se ha observado que la deficiencia de esta vitamina induce una regulación positiva de su captación a nivel de los enterocitos, mientras que una suplementación excesiva da origen a una regulación negativa de dicha captación (42, 45). Este proceso también parece ser regulado por el desarrollo durante las etapas tempranas de la vida, ya que durante el proceso de maduración se produce una disminución de su captación (46). La captación intestinal de la riboflavina también está regulada por vías intracelulares específicas, como aquella mediada por la proteína quinasa A (PKA), en la cual la activación de esta vía induce la inhibición de la captación de riboflavina (47). Al parecer, las dietas ricas en goma psyllium disminuyen la absorción de riboflavina, mientras que no se han observado efectos del salvado de trigo (48). El etanol interfiere en la digestión de la FAD y el FMN hasta riboflavina y también en la absorción directa de esta vitamina (49). Las sales biliares tienen un efecto positivo porque aumentan la absorción de la riboflavina y el FMN (50). Por otra parte, un estudio observó que algunos antiácidos pueden unirse a la riboflavina alterando su absorción (51). Metales como el cobre, el zinc y el hierro, y fármacos como la cafeína, la teofilina y la sacarina alteran la biodisponibilidad de la vitamina al formar quelatos o complejos con la riboflavina o el FMN (50). Asimismo, la nicotinamida y el ácido ascórbico, como también el triptófano y la urea, pueden tener efectos similares disminuyendo la biodisponibilidad de la riboflavina (50).

Niacina

La niacina es esencial para la formación de las coenzimas NAD(H) y NADP(H), las cuales participan en más de 200 reacciones involucradas en el metabolismo de los hidratos de carbono, los ácidos grasos y los aminoácidos (9). A pesar de las similitudes entre sus mecanismos y estructuras, el NAD y el NADP tienen papeles metabólicos muy diferentes. La mayoría de las deshidrogenasas son específicas para uno u otro de las coenzimas, y sólo unas pocas deshidrogenasas pueden utilizar tanto el NAD como el NADP. El NAD actúa como transportador de electrones en la respiración celular y como una co-deshidrogenasa con las enzimas involucradas en la oxidación de moléculas que el organismo utiliza como combustible, tales como el gliceraldehído 3-fosfato, el lactato, el etanol, el 3-hidroxibutirato, el piruvato y el α -cetoglutarato. El NADP actúa como donante de hidrógeno en reacciones reductoras en procesos de biosíntesis, tales como la síntesis de ácidos grasos y de esteroides y, al igual que el NAD, como co-deshidrogenasa en la oxidación de la glucosa 6-fosfato a ribosa 5-fosfato en la vía metabólica de las pentosa fosfatos.

La niacina puede provenir de fuentes endógenas o exógenas. La primera se refiere a la conversión metabólica del triptófano a niacina, mientras que la fuente externa tiene relación con la niacina proveniente de la dieta. También parece haber una pequeña contribución proveniente de la microflora residente del intestino grueso, que tiende a conservar en el citoplasma de sus células la niacina que produce (20). Las principales formas de niacina presentes en la alimentación son el NAD(H) y el NADP(H), los que son hidrolizados en la mucosa intestinal por la enzima NAD(P)⁺ glucohidrolasa para producir niacinamida, la forma en que esta vitamina es absorbida. Al parecer, la presencia o ausencia de alimentos en el lumen intestinal no tendría efectos sobre la absorción de la niacina (9). Se ha determinado que cuando las concentraciones luminales de niacina son bajas, su absorción se produce por difusión facilitada mediada por transportadores y dependiente de Na⁺, mientras que cuando las concentraciones son más elevadas predomina la difusión pasiva (9, 52).

Sin embargo, estudios recientes en células Caco-2 y en vesículas de la membrana apical de enterocitos, indican que cuando la niacina está presente en concentraciones fisiológicas, actúa un mecanismo dependiente del pH (ácido) del lumen, independiente del Na⁺ y mediado por un transportador (53). La identidad molecular del sistema de captación involucrado en la absorción intestinal de concentraciones fisiológicas de niacina está siendo objeto de investigaciones y se ha propuesto la participación en este sistema de la proteína hOAT-10 (human organic anion transporter-10) (54). Otros estudios han propuesto un papel en la captación de niacina para el transportador de monocarboxilato acoplado a sodio SLC5A8 (55, 56), aunque se cree que este podría estar involucrado en la absorción de niacina cuando es administrada en dosis farmacológicas, como las utilizadas en la clínica como agente hipolipemiente (19). Los mecanismos a través de los cuales la niacina sale del enterocito a través de su membrana basolateral no se conocen.

Vitamina B₆

La piridoxina, el piridoxal y la piridoxamina son las formas activas de la vitamina B₆, la cual actúa como cofactor de numerosas reacciones metabólicas en el metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas. El piridoxal 5-fosfato es la forma biológica más activa de las tres. La vitamina B₆ está ampliamente distribuida en los alimentos, con las mayores concentraciones presentes en las carnes, cereales integrales, vegetales y nueces. Las fuentes de origen vegetal contienen predominantemente piridoxina, mientras que en aquellas de origen animal predominan el piridoxal y la piridoxamina. Sin embargo, en varios alimentos, tanto de origen vegetal como animal, la vitamina B₆ se encuentra formando complejos que tienen baja digestibilidad y por lo tanto, la biodisponibilidad de la vitamina presente en estos alimentos es bastante baja (57).

Las formas libre y fosforilada de la vitamina B₆ provenientes de la dieta, se absorben a nivel del yeyuno y el íleon. La forma fosforilada es hidrolizada por la fosfatasa alcalina a nivel de membrana antes de su absorción (58). Estudios anteriores acerca del meca-

nismo de absorción de la vitamina B₆, indicaban que el proceso era no saturable (58, 59). Sin embargo, estudios más recientes en células Caco-2 muestran que existe un mecanismo de absorción de piridoxina mediado por un transportador dependiente de la existencia de un pH ácido (60, 61).

La microflora del intestino grueso sintetiza cantidades significativas de esta vitamina, la cual aparentemente se encuentra libre en el lumen (62) y, por lo tanto, disponible para ser absorbida. Estudios recientes en preparaciones de vesículas aisladas de la membrana apical de colonocitos de seres humanos, muestran que la piridoxina también es absorbida a este nivel mediante un transportador aún no identificado (61). Este proceso está mediado por mecanismos transcripcionales y controlado por la concentración de piridoxina extracelular y adicionalmente por una vía intracelular mediada por la proteína quinasa A (61).

Biotina

La biotina es el cofactor de cinco carboxilasas que participan en numerosas reacciones metabólicas, incluyendo la biosíntesis de ácidos grasos, la gluconeogénesis y el catabolismo de algunos amino ácidos y ácidos grasos. Esta vitamina se encuentra en varios tipos de alimentos, pero en concentraciones relativamente bajas. Su biodisponibilidad en alimentos es variable, pero en general es inferior al 50% (9). Una segunda fuente potencial de biotina es su biosíntesis por bacterias de la microflora intestinal; no se conoce el significado de este aporte para la nutrición del organismo, aunque varios estudios sugieren que la cantidad sintetizada es insuficiente para cubrir los requerimientos de este compuesto indispensable (63).

En los alimentos la biotina se encuentra ya sea en forma libre o ligada a proteínas; la biotina ligada a las proteínas es digerida por proteasas y peptidasas gastrointestinales dando origen a biocitina, la cual es convertida a biotina libre por la enzima biotinidasa (64). Una mutación de esta enzima conlleva a la “deficiencia de biotinidasa”, condición en la que la biocitina y otros péptidos cortos de biotina no pueden ser convertidos o reciclados a biotina y por

ende, la biotina no puede ingresar a las células del organismo, incluyendo los enterocitos (64).

Debido a que la biotina es una vitamina hidrosoluble con carga negativa, requiere un mecanismo de transporte específico para atravesar membranas biológicas; el ingreso de la biotina al enterocito es mediado por un transportador dependiente del sodio (65). Otros estudios mostraron que este transportador también participa en el ingreso del ácido pantoténico y el lipoato a la célula epitelial intestinal (66, 67) y es conocido en la actualidad como “transportador multivitamínico dependiente de sodio” (SMVT, por sus siglas en inglés) (Figura 1). Said y colaboradores demostraron que el paso de la biotina a través de la membrana apical del enterocito está mediada por el SMVT y que este transporte es de mayor magnitud en la porción proximal del intestino (67). Este mismo grupo también observó que el paso de la biotina a través de la membrana basolateral del enterocito es mediada por otro transportador que es independiente del sodio y saturable en función de la concentración de la vitamina (68).

El proceso de absorción de la biotina es regulado por factores extra e intracelulares. Estudios en ratas han demostrado que la cantidad de biotina presente en la dieta regula su absorción; cuando la dieta es deficiente en biotina, el organismo aumenta fraccionalmente su absorción (69) y ésta disminuye al proveer suplementos de dicha vitamina (70). El consumo crónico de alcohol se asocia con una disminución significativa del traspaso de biotina tanto a través de la membrana apical como de la basolateral del enterocito (71). Por otro lado, se ha observado que la absorción de biotina también se encuentra regulada por una vía mediada por una proteína quinasa C. La activación de esta vía está asociada con una disminución significativa de su captación por el enterocito mientras que su inhibición produce un leve aumento en su captación (66, 67).

Ácido pantoténico

El ácido pantoténico tiene dos formas metabólicamente activas, la coenzima A y la proteína transportadora de grupos acilo. La coenzima A, como acetil CoA, participa en el ciclo de Krebs, puede ser usada

para la síntesis y activación de ácidos grasos o en la acetilación de alcoholes, aminas y aminoácidos. Por otra parte, la proteína transportadora de grupos acilo es parte del complejo multi-enzimático sintetasa de ácidos grasos.

Debido a su ubicuidad, el ácido pantoténico se encuentra en una amplia variedad de alimentos. Son fuentes ricas en ácido pantoténico la carne de vacuno, el pollo, el hígado, los granos enteros y particularmente la jalea real de abeja. También es una potencial fuente de esta vitamina la microflora intestinal; sin embargo, se desconoce a la fecha la cantidad y la biodisponibilidad de esta fuente (19).

El ácido pantoténico se encuentra en la dieta mayoritariamente como coenzima A, la cual debe ser hidrolizada en el lumen intestinal a panteteína por acción de la pirofosfatasa y la fosfatasa (72). La panteteína es hidrolizada a su vez por la panteteinasa a ácido pantoténico libre, el cual es transportado al interior del enterocito por el SMVT (67) (Figura 1).

Folato

Se denomina folatos al conjunto de compuestos que conforman esta vitamina y que incluye al folato que se encuentra naturalmente en alimentos y al ácido fólico incorporado en suplementos dietéticos y alimentos fortificados. Las características comunes de los folatos incluyen el sistema del anillo bicíclico de pteridina, el ácido para-aminobenzoico y uno o más residuos de ácido glutámico. El folato participa principalmente en una serie de reacciones conocidas como del metabolismo de unidades de un átomo de carbono en la síntesis de las purinas y pirimidinas, en la formación de la S-adenosilmetionina, que participa en los procesos de metilación del ADN, ARN y las proteínas, y en la síntesis de metionina a partir de la homocisteína.

Los folatos se encuentran naturalmente en el jugo de naranja, las hortalizas de hoja verde oscuro, los espárragos, maníes y las legumbres. Adicionalmente, en varios países algunos alimentos son fortificados con ácido fólico tanto por dictado de leyes como voluntariamente por parte de las empresas que los producen (73). Se ha estimado que la biodisponibilidad de los folatos presentes en los alimentos

equivale a aproximadamente el 50% de la biodisponibilidad del ácido fólico ingerido en solución (74); la biodisponibilidad del ácido fólico ingerido como parte de un alimento fortificado es aproximadamente 85% (75). Debido a las diferencias en la biodisponibilidad entre los folatos naturales y el ácido fólico, la ingesta de esta vitamina se expresa como equivalentes de folato presente en la dieta, el cual se expresa como la cantidad ingerida de folatos naturales de los alimentos (expresada en μg) más 1.7 veces la cantidad de folato sintético ingerida (también expresada en μg).

Los folatos naturales de la dieta existen como mono y poliglutamatos. Estos últimos son hidrolizados a monoglutamatos en la porción proximal del intestino delgado por la enzima folipoli- γ -glutamato carboxipeptidasa, también conocida como pteroilglutamato hidrolasa. La absorción de los monoglutamatos a través de la membrana apical del enterocito es mediada por dos proteínas: el transportador de folatos reducidos (hRFC, por sus siglas en inglés) y el transportador de folatos acoplado con protones (hPCFT, por sus siglas en inglés) (76, 77) (Figura 1). El hRFC está expresado en la membrana apical del enterocito y funciona a pH neutro (78). El hPCFT también está expresado en la membrana apical del enterocito, principalmente en la porción proximal del intestino, pero depende de la existencia de un pH ácido. Asimismo, el hPCFT utiliza la energía creada por la gradiente de protones para movilizar a aquellos folatos cuya carga es negativa (por ejemplo, el 5-metil-tetrahidrofolato) (79). Debido a que la funcionalidad de ambos transportadores difiere en relación con el pH del lumen intestinal, se ha sugerido que el sistema hPCFT funciona en la porción proximal del intestino, en el cual el pH es ácido, mientras que el hRFC funciona en la porción más distal, donde el pH es neutro (80). Se sabe poco acerca de la identidad molecular del transportador de folato a través de la membrana basolateral, aunque se ha podido dilucidar que es mediado por un transportador específico (81).

La digestión y absorción del folato son reguladas por la cantidad de esta vitamina presente en la dieta y por el estado nutricional del individuo. La actividad de la folipoli- γ -glutamato carboxipeptidasa aumenta

durante la deficiencia de folato (82). Asimismo, durante la deficiencia de folato se observa un aumento fraccional de su absorción, lo cual se asocia con un aumento de la expresión de hPCFT y hRFC (82, 83).

Vitamina B₁₂

La vitamina B₁₂ funciona como cofactor de dos enzimas que participan en reacciones metabólicas: la adenosilcobalamina y la metilcobalamina. En las especies animales se han identificado sólo tres enzimas dependientes de la vitamina B₁₂: 1) la metilmalonil CoA mutasa que requiere adenosilcobalamina y está involucrada en la conversión del metilmalonil CoA a succinil CoA en el proceso de degradación del propionato; 2) la leucina mutasa, que también requiere adenosilcobalamina y participa en la conversión de la L- α -leucina a ácido 3-aminoisocaproico como primer paso en la síntesis/degradación de aminoácidos y 3) la metionina sintasa, la cual requiere metilcobalamina y está involucrada en la metilación de la homocisteína para la producción de metionina, un aminoácido esencial para la síntesis proteica. Por otra parte, al ser activada a S-adenosilmetionina, la metionina se vuelve fundamental como fuente de grupos metilo para la síntesis de creatina, fosfolípidos y neurotransmisores, así como para la metilación del ADN, el ARN y las proteínas. Por lo tanto, las enzimas dependientes de la vitamina B₁₂ juegan un papel fundamental en el metabolismo del propionato, aminoácidos y en reacciones en que participan unidades de un átomo de carbono.

La cobalamina se encuentra unida en los alimentos a la adenosilcobalamina, la metilcobalamina y a otras proteínas transportadoras, por lo que debe ser liberada para su absorción. El proceso se inicia al entrar los alimentos en contacto con la saliva, que contiene la proteína R o haptocorrina (84) (Figura 2). En el estómago el ácido clorhídrico gástrico hace que la cobalamina se desprenda de las proteínas de la dieta para que ocurra la digestión péptica. La vitamina liberada se une a la haptocorrina para ser transportada al duodeno. El factor intrínseco, proteína de unión específica a la cobalamina, es sintetizado y secretado

por las células parietales del estómago. Después de la neutralización del ácido gástrico, las enzimas digestivas separan a la haptocorrina de la cobalamina para que esta se pueda unir al factor intrínseco y permitir que el complejo cobalamina-factor intrínseco sea transportado al íleon (84). El receptor del factor intrínseco, también llamado cubilina, es una glicoproteína que capta al complejo cobalamina-factor intrínseco en el intestino delgado terminal (85). Durante la captación por los enterocitos del íleon, la cubilina unida al complejo factor intrínseco-cobalamina es internalizada por endocitosis mediante vesículas con cubierta de clathrina, proceso en que también participa la megalina, un receptor de naturaleza proteica (85). Después de la captación del complejo factor intrínseco-cobalamina por el enterocito, se produce la degradación del factor intrínseco, seguido por una modificación de la cobalamina y su transporte hacia la membrana basolateral donde la vitamina es liberada a la sangre, unida a la proteína transcobalamina (86).

La falta de factor intrínseco conduce a niveles muy bajos de absorción de la cobalamina junto con excreciones de vitamina B₁₂ en las heces que representan 80 a 100% de las dosis orales, en comparación con el 30-60% observado en los individuos con concentraciones adecuadas de factor intrínseco (9). El síndrome de Immerslund-Gräsbeck es un error congénito de la absorción de la vitamina B₁₂ que se debe a mutaciones del gen de la cubilina y ha sido observado principalmente en población finlandeses (85). La causa más común de alteraciones de la absorción de la cobalamina es la anemia perniciosa, debida a la destrucción autoinmune de las células parietales de la mucosa gástrica (86).

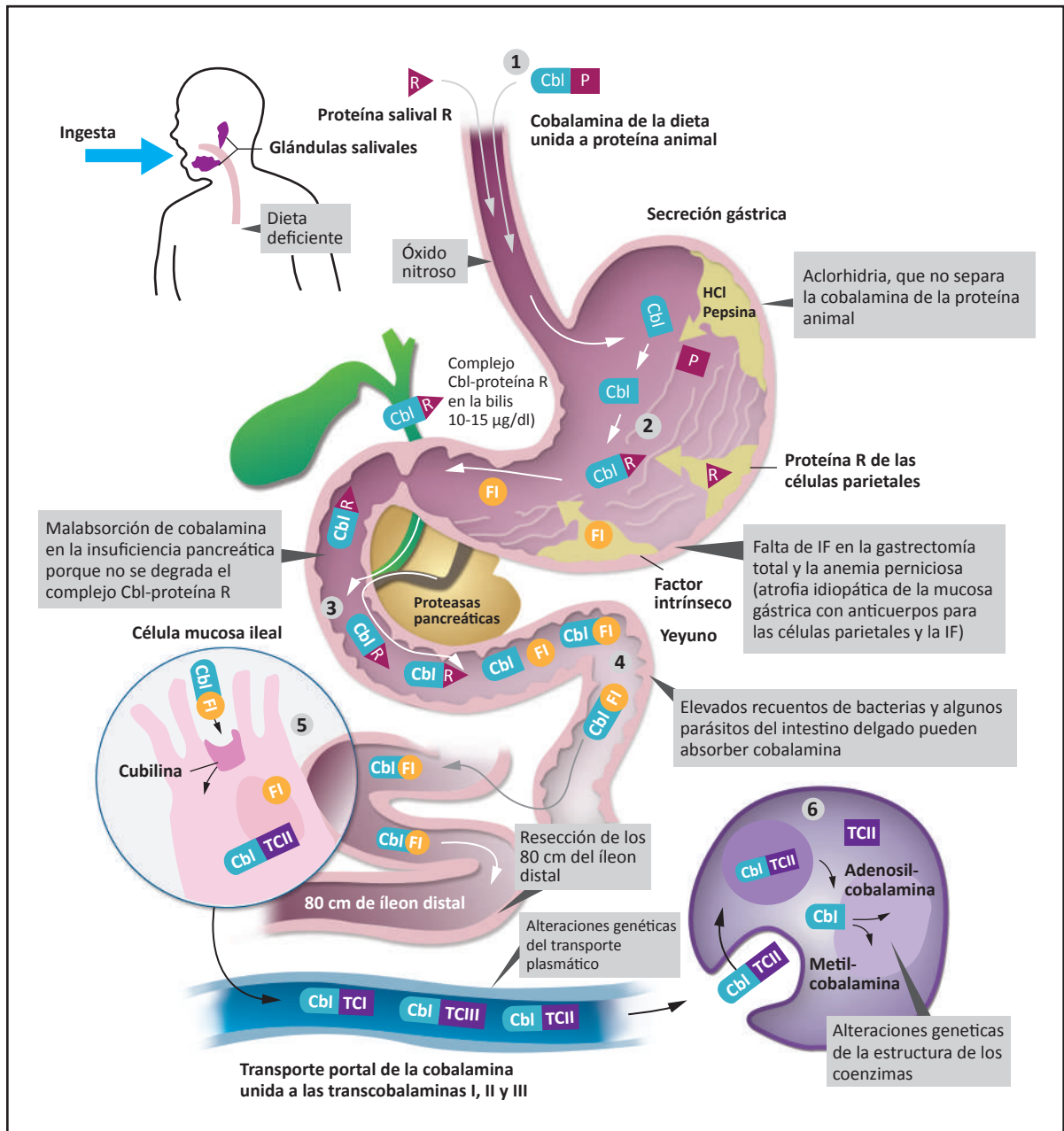


Figura 2. Absorción de cobalamina (vitamina B12) en el ser humano.

Referencias

1. Holick MF. McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D--new horizons for the 21st century. *Am J Clin Nutr* 1994; 60:619-30.
2. Fieser LF, Fieser M. Vitamin D. Steroids. New York: Reinhold, 1959: 90-168.
3. DeLuca HF. The vitamin D story: a collaborative effort of basic science and clinical medicine. *FASEB J* 1988; 2:224-36.
4. Reichel H, Norman AW. Systemic effects of vitamin D. *Ann Rev Med* 1989; 40:71-8.
5. Stumpf WE, Sar M, Reid FA, Tanaka Y, DeLuca HF. Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D3 in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary, and parathyroid. *Science* 1979; 206: 1188-90.
6. Colston K, Colston MJ, Feldman D. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and malignant melanoma: the presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. *Endocrinology* 1981; 108: 1083-86.
7. Eisman JA, Suva LJ, Sher E, Pearce PJ, Funder JW, Martin TJ. Frequency of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in human breast cancer. *Cancer Res* 1981; 41: 5121-24.
8. Abe E, Miyaura C, Sakagami H, et al. Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78: 4990-94.
9. Combs GF. The Vitamins: Fundamental aspects in nutrition and health. San Diego: Academic Press, 1992.
10. Reboul E, Gonçalves A, Comera C, et al. Vitamin D intestinal absorption is not a simple passive diffusion: evidences for involvement of cholesterol transporters. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 691-702.
11. Booth SL, Suttie JW. Dietary intake and adequacy of vitamin K. *J Nutr* 1998; 128: 785-88.
12. Bolton-Smith C, Price RJ, Fenton ST, Harrington DJ, Shearer MJ. Compilation of a provisional UK database for the phyloquinone (vitamin K1) content of foods. *Br J Nutr* 2000; 83: 389-99.
13. Suttie JW. The importance of menaquinones in human nutrition. *Ann Rev Nutr* 1995; 15:399-417.
14. Shearer MJ, McBurney A, Barkhan P. Studies on the absorption and metabolism of phyloquinone (vitamin K1) in man. *Vitam Horm* 1974; 32: 513-42.
15. Gijsbers BL, Jie KS, Vermeer C. Effect of food composition on vitamin K absorption in human volunteers. *Br J Nutr* 1996; 76: 223-29.
16. Garber AK, Binkley NC, Krueger DC, Suttie JW. Comparison of phyloquinone bioavailability from food sources or a supplement in human subjects. *J Nutr* 1999; 129: 1201-03.
17. Conly JM, Stein KE. The absorption and bioactivity of bacterially synthesized menaquinones. *Clin Invest Med* 1993; 16: 45-57.
18. Bettendorff L, Kolb HA, Schoffeniels E. Thiamine triphosphate activates an anion channel of large unit conductance in neuroblastoma cells. *J Membr Biol* 1993; 136: 281-88.
19. Said HM. Intestinal absorption of water-soluble vitamins in health and disease. *Biochem J* 2011; 437: 357-72.

20. Wrong OM, Edmonds CJ, Chadwick VS. The Large Intestine: Its Role in Mammalian Nutrition and Homeostasis. New York: Wiley and Sons, 1981.
21. Kasper H. Vitamin absorption in the colon. *Am J Proctol* 1970; 21: 341-45.
22. Guerrant NB, Dutcher RA, Brown RA. Further studies concerning formation of B vitamins in digestive tract of rat. *J. Nutr* 1937; 13: 305-15.
23. Najjar VA, Holt LE. The biosynthesis of thiamin in man and its implication in human nutrition. *JAMA* 1943;1 23: 683-84.
24. Rindi G. Thiamin absorption by small intestine. *Acta Vitaminol Enzymol* 1984; 6: 47-55.
25. Gregory JF, 3rd. Bioavailability of thiamin. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51 Suppl 1: S34-37.
26. Laforenza U, Patrini C, Alvisi C, Faelli A, Licandro A, Rindi G. Thiamine uptake in human intestinal biopsy specimens, including observations from a patient with acute thiamine deficiency. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 320-26.
27. Subramanian VS, Marchant JS, Parker I, Said HM. Cell biology of the human thiamine transporter-1 (hTHTR1). Intracellular trafficking and membrane targeting mechanisms. *J Biol Chem* 2003; 278: 3976-84.
28. Said HM, Balamurugan K, Subramanian VS, Marchant JS. Expression and functional contribution of hTHTR-2 in thiamin absorption in human intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G491-98.
29. Reidling JC, Said HM. Adaptive regulation of intestinal thiamin uptake: molecular mechanism using wild-type and transgenic mice carrying hTHTR-1 and -2 promoters. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G1127-34.
30. Reidling JC, Nabokina SM, Balamurugan K, Said HM. Developmental maturation of intestinal and renal thiamin uptake: studies in wild-type and transgenic mice carrying human THTR-1 and 2 promoters. *J Cell Physiol* 2006; 206: 371-77.
31. Nabokina SM, Reidling JC, Said HM. Differentiation-dependent up-regulation of intestinal thiamin uptake: cellular and molecular mechanisms. *J Biol Chem* 2005; 280: 32676-82.
32. Said HM, Ortiz A, Kumar CK, Chatterjee N, Dudeja PK, Rubin S. Transport of thiamine in human intestine: mechanism and regulation in intestinal epithelial cell model Caco-2. *Am J Physiol* 1999; 277: C645-51.
33. Said HM, Ortiz A, Subramanian VS, Neufeld EJ, Moyer MP, Dudeja PK. Mechanism of thiamine uptake by human colonocytes: studies with cultured colonic epithelial cell line NCM460. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G144-50.
34. Subramanya SB, Subramanian VS, Said HM. Chronic alcohol consumption and intestinal thiamin absorption: effects on physiological and molecular parameters of the uptake process. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G23-31.
35. Subramanian VS, Subramanya SB, Said HM. Chronic alcohol exposure negatively impacts the physiological and molecular parameters of the renal biotin reabsorption process. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 300: F611-17.
36. Bukhari FJ, Moradi H, Gollapudi P, Ju Kim H, Vaziri ND, Said HM. Effect of chronic kidney disease on the expression of thiamin and folic acid transporters. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 26: 2137-44.

37. Ashokkumar B, Kumar JS, Hecht GA, Said HM. Enteropathogenic *Escherichia coli* inhibits intestinal vitamin B1 (thiamin) uptake: studies with human-derived intestinal epithelial Caco-2 cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G825-33.
38. Iinuma S. Synthesis of riboflavin by intestinal bacteria. *J Vitaminol (Kyoto)* 1955; 1: 6-13.
39. Said HM, Ortiz A, Moyer MP, Yanagawa N. Riboflavin uptake by human-derived colonic epithelial NCM460 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 278: C270-76.
40. Daniel H, Binninger E, Rehner G. Hydrolysis of FMN and FAD by alkaline phosphatase of the intestinal brush-border membrane. *Int J Vitam Nutr Res* 1983; 53: 109-14.
41. Daniel H, Wille U, Rehner G. In vitro kinetics of the intestinal transport of riboflavin in rats. *J Nutr* 1983; 113: 636-43.
42. Said HM, Ma TY. Mechanism of riboflavine uptake by Caco-2 human intestinal epithelial cells. *Am J Physiol* 1994; 266: G15-21.
43. Said HM, Hollander D, Mohammadkhani R. Uptake of riboflavin by intestinal basolateral membrane vesicles: a specialized carrier-mediated process. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1148: 263-8.
44. Yamamoto S, Inoue K, Ohta KY, et al. Identification and functional characterization of rat riboflavin transporter 2. *J Biochem* 2009; 145: 437-43.
45. Said HM, Mohammadkhani R. Uptake of riboflavin across the brush border membrane of rat intestine: regulation by dietary vitamin levels. *Gastroenterology* 1993; 105: 1294-98.
46. Said HM, Ghishan FK, Greene HL, Hollander D. Development maturation of riboflavin intestinal transport in the rat. *Pediatr Res* 1985; 19: 1175-78.
47. Said HM, Ma TY, Grant K. Regulation of riboflavin intestinal uptake by protein kinase A: studies with Caco-2 cells. *Am J Physiol* 1994; 267: G955-59.
48. Roe DA, Kalkwarf H, Stevens J. Effect of fiber supplements on the apparent absorption of pharmacological doses of riboflavin. *J Am Diet Assoc* 1988; 88: 211-13.
49. Pinto JT, Huang YP, Rivlin RS. Mechanisms underlying the differential effects of ethanol upon the bioavailability of riboflavin and flavin adenine dinucleotide. *J Clin Invest* 1987; 79: 1343-48.
50. Jusko WJ, Levy G. Absorption, protein binding and elimination of riboflavin. In: Rivlin RS, ed. *Riboflavin*. New York: Plenum Press, 1975:99-152.
51. Feldman S, Hedrick W. Antacid effects on the gastrointestinal absorption of riboflavin. *J Pharm Sci* 1983; 72: 121-23.
52. Henderson LM, Gross CJ. Transport of niacin and niacinamide in perfused rat intestine. *J Nutr* 1979; 109: 646-53.
53. Nabokina SM, Kashyap ML, Said HM. Mechanism and regulation of human intestinal niacin uptake. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 289: C97-103.
54. Bahn A, Hagos Y, Reuter S, et al. Identification of a new urate and high affinity nicotinate transporter, hOAT10 (SLC22A13). *J Biol Chem* 2008; 283: 16332-41.

55. Gopal E, Fei YJ, Miyauchi S, Zhuang L, Prasad PD, Ganapathy V. Sodium-coupled and electrogenic transport of B-complex vitamin nicotinic acid by slc5a8, a member of the Na/glucose co-transporter gene family. *Biochem J* 2005; 388: 309-16.
56. Gopal E, Miyauchi S, Martin PM, et al. Transport of nicotinate and structurally related compounds by human SMCT1 (SLC5A8) and its relevance to drug transport in the mammalian intestinal tract. *Pharm Res* 2007; 24: 575-84.
57. Gregory JF, 3rd. Bioavailability of vitamin B-6. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51 Suppl 1: S43-8.
58. Hamm MW, Mehansho H, Henderson LM. Transport and metabolism of pyridoxamine and pyridoxamine phosphate in the small intestine of the rat. *J Nutr* 1979; 109: 1552-59.
59. Yoshida S, Hayashi K, Kawasaki T. Pyridoxine transport in brush border membrane vesicles of guinea pig jejunum. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1981; 27: 311-17.
60. Said HM, Ortiz A, Ma TY. A carrier-mediated mechanism for pyridoxine uptake by human intestinal epithelial Caco-2 cells: regulation by a PKA-mediated pathway. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 285: C1219-25.
61. Said ZM, Subramanian VS, Vaziri ND, Said HM. Pyridoxine uptake by colonocytes: a specific and regulated carrier-mediated process. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 294: C1192-97.
62. Mitchell HK, Isbel ER. Intestinal bacterial synthesis as a source of B vitamin for the rat. *Univ Texas Publ* 1942; 4237: 125-34.
63. McMahon RJ. Biotin in metabolism and molecular biology. *Ann Rev Nutr* 2002; 22: 221-39.
64. Wolf B, Heard GS, McVoy JR, Raetz HM. Biotinidase deficiency: the possible role of biotinidase in the processing of dietary protein-bound biotin. *J Inher Metab Dis* 1984; 7 Suppl 2: 121-22.
65. Fenstermacher DK, Rose RC. Absorption of pantothenic acid in rat and chick intestine. *Am J Physiol* 1986; 250: G155-60.
66. Said HM. Cellular uptake of biotin: mechanisms and regulation. *J Nutr* 1999; 129: 490S-93S.
67. Said HM, Ortiz A, McCloud E, Dyer D, Moyer MP, Rubin S. Biotin uptake by human colonic epithelial NCM460 cells: a carrier-mediated process shared with pantothenic acid. *Am J Physiol* 1998; 275: C1365-71.
68. Said HM, Redha R, Nylander W. Biotin transport in basolateral membrane vesicles of human intestine. *Gastroenterology* 1988; 94: 1157-63.
69. Said HM, Mock DM, Collins JC. Regulation of intestinal biotin transport in the rat: effect of biotin deficiency and supplementation. *Am J Physiol* 1989; 256: G306-11.
70. Reidling JC, Nabokina SM, Said HM. Molecular mechanisms involved in the adaptive regulation of human intestinal biotin uptake: A study of the hSMVT system. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G275-81.
71. Subramanya SB, Subramanian VS, Kumar JS, Hoiness R, Said HM. Inhibition of intestinal biotin absorption by chronic alcohol feeding: cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G494-501.
72. Shibata K, Gross CJ, Henderson LM. Hydrolysis and absorption of pantothenate and its coenzymes in the rat small intestine. *J Nutr* 1983; 113: 2107-15.

73. Maberly G, Grummer-Strawn L, Jefferds ME, et al. Trends in Wheat-Flour Fortification with Folic Acid and Iron - Worldwide, 2004 and 2007. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. Atlanta: Center for Diseases Control, 2008: 8-10.
74. Sauberlich HE, Kretsch MJ, Skala JH, Johnson HL, Taylor PC. Folate requirement and metabolism in nonpregnant women. *Am J Clin Nutr* 1987; 46: 1016-28.
75. Food and Nutrition Board IoM. *Dietary Reference Intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin and choline*. Washington, DC: National Academy Press, 1998.
76. Sirotnak FM, Tolner B. Carrier-mediated membrane transport of folates in mammalian cells. *Ann Rev Nutr* 1999; 19: 91-122.
77. Zhao R, Matherly LH, Goldman ID. Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues. *Expert Rev Mol Med* 2009; 11: e4.
78. Wang Y, Zhao R, Russell RG, Goldman ID. Localization of the murine reduced folate carrier as assessed by immunohistochemical analysis. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1513: 49-54.
79. Qiu A, Jansen M, Sakaris A, et al. Identification of an intestinal folate transporter and the molecular basis for hereditary folate malabsorption. *Cell* 2006; 127: 917-28.
80. Said HM, Blair JA, Lucas ML, Hilburn ME. Intestinal surface acid microclimate in vitro and in vivo in the rat. *J Lab Clin Med* 1986; 107: 420-24.
81. Said HM. Recent advances in carrier-mediated intestinal absorption of water-soluble vitamins. *Ann Rev Physiol* 2004; 66: 419-46.
82. Said HM, Chatterjee N, Haq RU, et al. Adaptive regulation of intestinal folate uptake: effect of dietary folate deficiency. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279: C1889-95.
83. Ashokkumar B, Mohammed ZM, Vaziri ND, Said HM. Effect of folate oversupplementation on folate uptake by human intestinal and renal epithelial cells. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 159-66.
84. Festen HP. Intrinsic factor secretion and cobalamin absorption. *Physiology and pathophysiology in the gastrointestinal tract*. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1991; 188: 1-7.
85. Moestrup SK, Verroust PJ. Mammalian receptors of vitamin B12- binding proteins. In: Banerjee R, ed. *Chemistry and biochemistry of B12*. New York: Wiley Interscience, 1999: 475-88.
86. Quadros EV. Advances in the understanding of cobalamin assimilation and metabolism. *Br J Haematol* 2010; 148: 195-204.

Absorción de calcio, fósforo y vitamina D

Santiago Muzzo Benavides

Chile ha tenido un rápido paso de una pre transición, a una post transición epidemiológica en sus problemas de salud, al lograr disminuir la mortalidad general e infantil, eliminar la desnutrición calórico-proteica primaria y bajar las tasas de natalidad, lo que se asoció con un considerable aumento de la expectativa de vida de la población. Un resultado de este proceso ha sido el aumento de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) del adulto y adulto mayor, entre ellas la osteoporosis (1).

Los factores que influyen en el proceso de mineralización ósea (MO) son múltiples, e incluyen el patrimonio genético, la edad, el sexo, la nutrición, la actividad física, la adecuada absorción intestinal de vitaminas y minerales y las patologías que el individuo puede haber sufrido durante su vida, así como el uso de ciertos medicamentos.

Para lograr un nivel de MO normal, es fundamental mantener una nutrición adecuada, lo que se vuelve especialmente crítico durante aquellos períodos en que el crecimiento es rápido, como son el último trimestre del embarazo y, en la vida postnatal, los dos primeros años de vida del lactante y la adolescencia. De acuerdo con las recomendaciones del consenso del NIH (*National Institutes of Health*, USA), la ingesta adecuada de calcio y de vitamina D y la exposición a la luz solar junto con un nivel adecuado de actividad física permiten obtener una Masa Ósea Máxima del Adulto Joven (MOMAJ) de calidad óptima. La MOMAJ representa un “capital de reserva” de masa ósea para el adulto y, por lo tanto, es la meta que se debe tratar de conseguir. Una MOMAJ lo más alta posible es un objetivo importante para los jóvenes, porque disminuye el riesgo futuro de osteoporosis.

La figura 1 muestra la evolución de la masa ósea a lo largo de la vida en función de ingestas de calcio bajas y alta (2,3).

Desde el punto de vista de la nutrición, el calcio, el fósforo y la vitamina D son fundamentales para una MO adecuada. El calcio es el principal catión que forma la estructura cristalina del depósito de minerales del hueso. El calcio cumple además muchas otras funciones en el organismo, entre ellas actuar como cofactor en reacciones enzimáticas, participar en los procesos de señalización celular y en la secreción de hormonas, en los procesos de neurotransmisión y en la contracción muscular, tanto estriada como lisa, y en la coagulación sanguínea. Los niveles bajos de ingesta de calcio resultan en una menor masa ósea, así como en una Densidad Mineral Ósea (DMO) más baja que favorecen la aparición de la osteoporosis a edades más tempranas, con su asociación con tasas altas de fracturas y morbimortalidad en los adultos mayores (4).

En la adolescencia las necesidades de calcio aumentan debido al rápido crecimiento y al aumento de la masa corporal y como resultado la absorción neta de calcio aumenta al 30%. En el adulto joven la absorción de calcio disminuye y su excreción aumenta por lo que la retención de este elemento es menor. El balance de calcio se vuelve negativo con niveles de ingesta inferiores a 700 mg/día y por el contrario, es positivo cuando se elevan sobre los 1.000 mg/día, situación en que se logran retenciones de aproximadamente 100 mg/día.

Matkovic definió el concepto de ingesta umbral de calcio como aquella por debajo de la cual la acumulación de calcio en el esqueleto es función de la

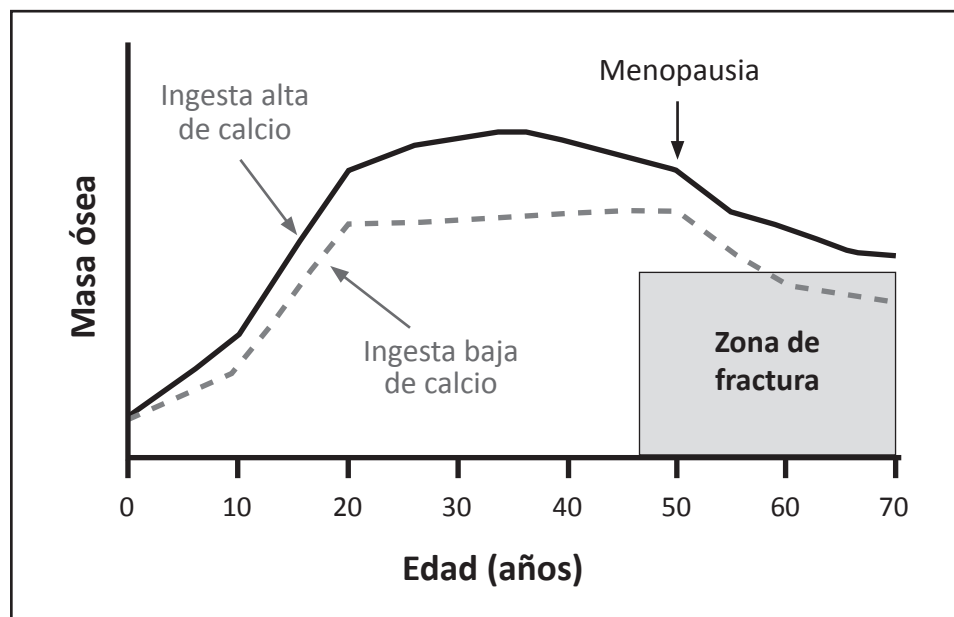


Figura 1. Masa ósea a lo largo de la vida, en condiciones de ingesta alta y baja de calcio.

ingesta y por encima de la cual su acumulación se vuelve constante. Con ingestas bajo el umbral la retención de calcio no se satisfacen los requerimientos de calcio del sistema esquelético, lo cual se traduce en su paulatina desmineralización, mientras que la saturación máxima se obtiene con ingestas iguales o superiores a la ingesta umbral (5).

1. Fisiología del calcio y fósforo

Los niveles de ingesta diaria de calcio de una población son muy variables. La fracción absorbida por el intestino es mayor cuando la ingesta del mineral es baja y es proporcionalmente menor al sobrepasar los niveles recomendados. El adulto joven mantiene un balance de calcio cero; al ingerir 1.000 mg de calcio, absorbe 350 mg y excreta una cantidad similar. Alrededor de 150 mg son secretados al intestino y eliminados por las deposiciones junto con el calcio de la dieta que no se absorbe, mientras que los 200 mg restantes se eliminan por el riñón. Aproximadamente 500 mg de calcio son extraídos del espacio

extracelular para formar hueso y una cantidad igual vuelve a este pool desde el esqueleto, debido al continuo proceso de remodelación ósea. El niño y el adolescente tienen un balance de calcio positivo porque la formación de masa ósea supera a la reabsorción. Después de la tercera década de la vida, el balance de calcio se hace negativo debido al aumento de la reabsorción ósea (Figura 1).

El calcio intracelular es un importante segundo mensajero y cofactor de proteínas y enzimas que regulan la producción y liberación de neurotransmisores, la motilidad intestinal, la secreción hormonal y la proliferación celular, mientras que el calcio extracelular es parte integral de la fase mineral del hueso, es un cofactor de moléculas de adherencia, participa de los factores de la coagulación sanguínea, interviene en la adherencia entre células y regula la excitabilidad neuronal (3, 4).

En la absorción de Ca^{++} por el epitelio intestinal participan dos procesos que son el transporte paracelular y el transporte transcelular. El transporte paracelular se produce por difusión y es dependiente del gradiente de concentración que se establece

entre el lumen intestinal y la superficie basolateral del enterocito en contacto con la lámina propia y no requiere gasto de energía. Cuando la ingesta de calcio es baja, esta forma de transporte da cuenta del 80% de la absorción de calcio. El transporte a través del epitelio intestinal ocurre principalmente en el duodeno, es regulado por la $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ y requiere gasto de energía (6).

El fósforo también es un componente importante de la estructura y función de compuestos que participan en la síntesis de los nucleótidos de alta transferencia energética (ATP, GTP por ejemplo), en cofactores de reacciones enzimáticas; y es además el principal anión de la estructura cristalina del hueso. El porcentaje del fosfato de la dieta que es absorbido es relativamente constante y mantiene una relación lineal con los niveles de ingesta, por lo que su excreción urinaria es el principal mecanismo que mantiene el balance. Si la dieta aporta 900 mg de fósforo, se absorben aproximadamente 600 mg, se pierden por las deposiciones 300 mg y se excretan 600 mg por la vía urinaria. La secreción intestinal de fosfato es escasa y se intercambian 250 mg, con el hueso como parte del proceso de remodelación. La excreción renal de fosfato es controlada por un mecanismo de exceso de flujo; los túbulos renales tienen una capacidad de transporte máxima para reabsorber fosfato de 0,1 mmol/min. Cuando la cantidad presente en el filtrado glomerular es menor, se reabsorbe casi todo el fósforo en tanto que si dicha cantidad es mayor, el exceso se excreta por la orina (5). La homeostasis de calcio y fósforo es regulada principalmente por la parathormona (PTH), la vitamina D y la calcitonina, las que actúan a nivel del intestino, el hueso y los riñones.

El recién nacido de término, con unos 3.500 gramos de peso corporal, tiene 30 g de calcio en su organismo, mientras que un adulto que pesa unas 20 veces más tiene 1.000 g, lo que representa un incremento de 30 veces y es un índice del gran esfuerzo metabólico que el organismo debe realizar durante las etapas de crecimiento para llegar a obtener una adecuada mineralización del esqueleto. El 99% del calcio del organismo está en los huesos y el resto en

los compartimientos intra y extracelular. La concentración extracelular de calcio es diez mil veces mayor que la concentración intracelular, por lo cual el organismo debe gastar una gran cantidad de energía para mantener este gradiente.

2. Requerimientos de calcio

El aporte de calcio de los diferentes alimentos es muy variable, destacando la leche y los productos lácteos como la principal fuente nutricional (Tabla 1). En una reunión de consenso en NIH (*National Institutes of Health*), en los Estados Unidos, se enunciaron los nuevos valores de ingesta óptima de calcio para los diferentes grupos etáreos, los que se detallan en la Tabla 2 (7).

3. Biodisponibilidad del calcio

La absorción neta de calcio disminuye con la edad, aumenta proporcionalmente con las ingestas bajas y disminuye como fracción del total con las ingestas

Alimento	Calcio (mg/100g o dL)
Leche materna	35
Queso	de 800 a 1.200
Leche de vaca	120
Yogurt	250
Pan blanco o integral	20
Col (cruda)	75
Huevos	52
Naranjas	41
Principales legumbres	20 - 50
Pescados	10 - 20
Mantequilla	15
Arroz	10
Carnes	10
Agua potable	10 (variable)
Papa sin hervir	8
Margarina	4

Tabla 1. Contenido de calcio en los principales alimentos (mg/100g).

Grupo	Ingesta diaria óptima (mg de calcio)
Lactantes	
Nacimiento a 6 meses	400
6 meses a 1 año	600
Niños	
1 a 5 años	800
6 a 10 años	800 - 1.200
Adolescentes/adultos jóvenes	
11 a 24 años	1.200 - 1.500
Hombres	
25 a 65 años	1.000
> 65 años	1.500
Mujeres	
25 a 50 años	1.000
> 50 años (post menopausia)	
Con estrógenos	1.000
Sin estrógenos	1.500
> 65 años	1.500
Embarazadas y nodrizas	1.200 - 1.500

Tabla 2. Requerimientos de calcio.

altas. Al aumentar la ingesta de proteínas, aumenta la excreción urinaria de calcio sin que varíen ni su absorción a nivel intestinal, ni la excreción fecal endógena (8).

Las dietas con alto contenido de fibra aumentan la pérdida de minerales porque aumentan el volumen fecal y por el efecto quelante de calcio de la fibra dietética. Los ácidos grasos saturados libres aumentan la excreción fecal de calcio ya que forman jabones de calcio en el lumen del intestino, los cuales son poco solubles y son eliminados con las deposiciones. Algunos fármacos como los diuréticos, los antiácidos en base a aluminio, los anticonvulsivantes, los anticoagulantes y los glucocorticoides, afectan negativamente el balance de calcio. El consumo

excesivo de alcohol, café y tabaco, así como la deficiencia intestinal de lactasa también alteran el balance de calcio (8).

La solubilidad de los preparados comerciales de calcio depende del pH intestinal. Con un mismo pH las tabletas de carbonato de calcio, citrato de calcio o fosfato dicálcico son las que tienen mejor solubilidad. Es un hecho conocido que la acidez gástrica disminuye con la edad, lo que aumenta el número de individuos con hipo y aclorhidria, con lo cual disminuye la capacidad de disolución de los suplementos o medicamentos usados para suministrar calcio. Asimismo, son numerosos los pacientes que reciben antiácidos en base a aluminio y otros medicamentos que hacen variar el pH gástrico y del duodeno alto hacia una menor acidez. La disolución gástrica de las tabletas de calcio es mayor mientras mayor es su trituración (9). Todos estos factores pueden influir en la biodisponibilidad del calcio aportado por los suplementos. Otro factor que debe ser tomado en consideración es el horario de administración, siendo el ideal la administración nocturna. Existe un ritmo circadiano en la excreción urinaria de marcadores de la reabsorción ósea, con un máximo entre las 3 y 7 de la mañana y el nadir entre 3 y 7 de la tarde, dependientes al parecer del ritmo de secreción diaria de la parathormona (10). También se favorece la absorción del medicamento o suplemento al ingerirlo entre la comidas para evitar su interacción con algunos nutrientes que disminuyen su biodisponibilidad. Cuando se administra calcio en cantidades hasta de 500 mg se lo puede administrar en una dosis única; en cambio si las cantidades son mayores es mejor fraccionarlo en 2 a 3 dosis diarias.

3.1 Los prebióticos y la absorción de calcio

La primera definición de prebióticos fue formulada por Gibson y Roberfroid en 1995, quienes los definieron como hidratos de carbono indigeribles, beneficiosos para la salud del consumidor debido a su capacidad de estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad metabólica de una o más poblaciones de bacterias del colon, en especial los

lactobacilos y bifidobacterias. Un Grupo Técnico de la Organización de las Naciones Unidas para La Agricultura y la Alimentación (FAO) reunido en 2007, los definió en forma más precisa como un “componente no viable de los alimentos que confiere un beneficio para la salud del huésped porque está asociado con una modulación de su microbiota” (11).

De acuerdo con esta última definición, los prebióticos incluyen no sólo hidratos de carbono no digeribles, sino otras moléculas como algunos nucleótidos y proteínas no digeribles. Los prebióticos más usados en la práctica son polímeros de fructosa, denominados fructooligosacáridos (FOS), derivados principalmente de la inulina que se obtiene de la raíz de achicoria, y los galactooligosacáridos (GOS), polímeros sintéticos de galactosa. Los prebióticos llegan cuantitativamente al colon donde son fermentados por diversas bacterias, principalmente lactobacilos y bifidobacterias. Este proceso da lugar a la producción de hidrógeno, anhídrido carbónico, agua y gran cantidad de ácidos grasos de cadena corta (principalmente los ácidos acético, propiónico y butírico). Como resultado de la presencia de estos ácidos, el lumen del colon se acidifica y esto favorece la solubilización y probablemente la biodisponibilidad del calcio y el magnesio. Los estudios en este sentido efectuados en seres humanos han demostrado que la administración de FOS a mujeres postmenopáusicas y a adolescentes, aumenta la fracción del calcio

de la dieta que es absorbido y retenido en el organismo (12-15).

4. Vitamina D y salud ósea

La vitamina D juega un papel fundamental en la homeostasis del calcio y en la salud ósea. Su forma activa es la 1,25 - dihidroxivitamina D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3(\text{D}_2)$). La vitamina D es considerada una hormona ya que su metabolito activo circula en la sangre y al alcanzar los tejidos blanco, activa la transcripción de diferentes genes así como la expresión de proteínas de la membrana plasmática de las células, donde actúa y regula el crecimiento y la diferenciación celular, con lo cual tiene un papel importante en el crecimiento y mantenimiento del tejido óseo.

Se ha demostrado que el raquitismo puede ser prevenido aumentando la cantidad de vitamina D presente en la dieta o a través de la exposición de la piel a la luz solar (6).

4.1 Fuentes de vitamina D

La vitamina D es un esteroide derivado del colesterol; sus formas precursoras son el 7-dehidrocolesterol y el ergosterol. El primero es la provitamina D de origen animal, precursora del colecalciferol o vitamina D_3 , en tanto que el segundo es la provitamina D_2 , de origen vegetal. Su estructura química se muestra en la Figura 2.

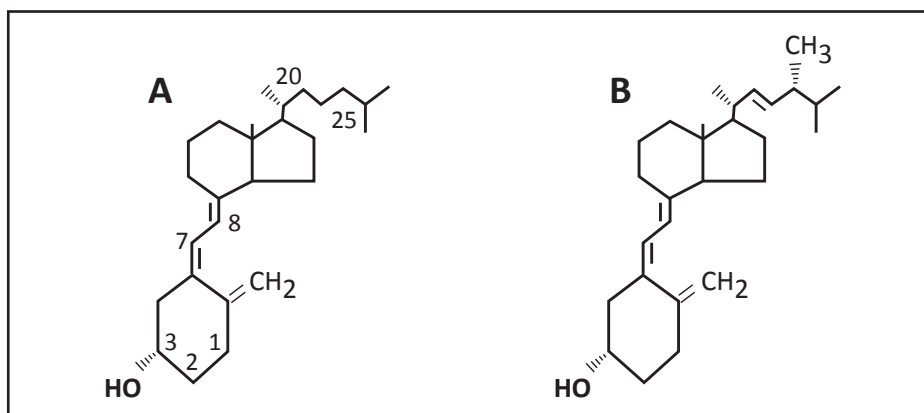


Figura 2. Estructura de la vitamina D_3 (A) y de la vitamina D_2 (B)

Un forma de producir vitamina D₃ es a través de la exposición de la piel, al menos la cara y manos por 5 a 15 minutos al día, a la radiación ultravioleta (UV) de los rayos solares (290–315 nm), lo que induce la producción de alrededor del 80% de la vitamina D₃ requerida por un ser humano adulto.

El uso frecuente de cremas para protección solar, el tipo de vestimenta, la permanencia en espacios cerrados, el envejecimiento de la piel y factores climáticos limitan su producción. La melanina de la piel es un protector natural de la radiación solar capaz de absorber radiación UV (200–280 nm); por lo tanto, personas más morenas producen menos vitamina D₃. Las personas que viven en latitudes extremas en ambos hemisferios (por encima de los 40º de latitud) donde la radiación ultravioleta es absorbida por

el ozono, por las nubes o por la polución durante el invierno, producen menos vitamina D activa. En estas situaciones, es necesario indicar fármacos o alimentos (aceite de hígado de pescados; pescados frescos, huevos, mantequilla, margarina, quesos y leche, o alimentos funcionales) que la aporten. La Tabla 3 muestra las principales fuentes alimentarias de vitamina D.

4.2 Metabolismo de la vitamina D

La vitamina D₃ se produce en la piel por exposición a la luz solar y a continuación circula por el torrente sanguíneo hasta alcanzar sus células blanco. La radiación produce la isomerización de la estructura de las provitaminas D₃ y D₂, y las transforma en el 9,10-secosterol o previtamina D₃ o D₂. La previtami-

Fuentes naturales	UI vitamina D/porción
Arenque	1383 / 3 onzas
Salmón rosado enlatado	530 / 3 onzas
Aceite de hígado de bacalao	450 / 1 cucharadita
Bagre	425 / 3 onzas
Ostra	272 / 3 onzas
Sardinas enlatadas en salsa de tomate	213 1/2 taza o 182/ sardina
Sardinas enlatadas en aceite	203 1/2 taza o 33/ sardina
Atún enlatado en aceite	200 / 3 onzas
Camarones	129 / 3 onzas
Huevo cocido	26 huevo completo o 25/yema
Fuentes fortificadas	UI vitamina D/porción
Leche de vaca	100 / 8 onzas
Leche de soya fortificada	100 / 8 onzas
Jugo de naranja fortificado	100 / 8 onzas
Cereales fortificados	40 / porción
Yogurt y bebidas lácteas fortificadas	40 / 1/2 taza
Fuentes suplementarias	UI vitamina D/porción
Complejos multivitamínicos	Usualmente 400 UI
Calcio con vitamina D	Cantidad variable
Vitamina D solamente	Cantidad variable

Tabla 3. Fuentes de vitamina D.

na D_3 se une a la proteína ligante de la vitamina D (DBP), que la estabiliza y previene su degradación o transformación a isómeros biológicamente inactivos (16).

La vitamina D que proviene de los alimentos es absorbida por difusión pasiva por las células epiteliales del intestino delgado proximal, se incorpora a los quilomicrones durante la absorción y transporte de los triglicéridos pero una cantidad importante es transportada directamente al hígado a través de la circulación portal. La presencia de grasa en el lumen disminuye su absorción; esta fracción es transportada por la vía linfática y posteriormente se incorpora en los remanentes de quilomicrones y llega también al hígado, el que la metaboliza a $25(OH)D$ o la transporta a los adipocitos y el músculo para su almacenamiento.

Las enzimas involucradas en el metabolismo de la vitamina D están localizadas en el retículo endoplasmático de las células de diferentes tejidos y son parte del complejo enzimático citocromo P-450 (CYP). La metabolización de la vitamina D es realizada en los diferentes tejidos por diferentes isoenzimas de este complejo (17).

4.3 Primera hidroxilación

Las vitaminas D_3 o D_2 son activadas en el hígado por la enzima CYP27 en un proceso que produce 25-hidroxivitamina D_3 o D_2 ($25(OH)D_3(D_2)$), la que a continuación se une a la DBP y puede alcanzar concentraciones plasmáticas de 10 a 40 ng/ml. Su vida media en la circulación es de un mes. Los niveles plasmáticos de $25(OH)D_3(D_2)$ están determinados por los requerimientos de calcio del individuo. En presencia de hipocalcemia la $25(OH)D_3(D_2)$ disminuye en la sangre porque es hidroxilada en el riñón (segunda hidroxilación); por el contrario, la hipercalcemia induce la reacción catalizada por CYP24. En el ser humano los niveles plasmáticos de $25(OH)D_3(D_2)$ son los indicadores del estado de la nutrición de vitamina D.

4.4 Segunda hidroxilación

La $25(OH)D_3(D_2)$ se convierte en $1,25(OH)_2D_3(D_2)$ por la acción de la enzima CYP1 α (forma activa). La segunda hidroxilación de la vitamina D está regulada por tres mecanismos: I) Retroalimentación por los niveles de $1,25(OH)_2D_3(D_2)$: si están aumentados inhiben a la CYP1 α , mientras que los niveles disminuidos la activan; II) La secreción de la hormona paratiroidea (PTH) inducida por la hipocalcemia, la que a su vez activa a la enzima CYP1 α ; III) Activación de la CYP1 α por la presencia de hipofosfatemia; el aumento de la expresión del gen para la síntesis de la enzima CYP1 α es inducido por los estrógenos.

4.5 Degradación de $1,25-(OH)_2 D_3(D_2)$

Las enzima CYP24 controla la concentración de $1,25(OH)_2D_3(D_2)$, la que actúa en los tejidos extrahepáticos. Esta enzima inactiva a la vitamina al hidroxilarla en la posición 24, convirtiéndola en un metabolito inactivo que es excretado por la bilis.

4.6 Mecanismo de acción y efectos fisiológicos de la vitamina D

La activación de los genes blanco de la vitamina D ocurre cuando la $1,25(OH)_2D_3(D_2)$ se une a un receptor proteico de vitamina D (VDR), y que se asocia con el receptor del ácido retinoico (RXR) formando un heterodímero. Este aumenta la afinidad del complejo VDR- D_3 por un elemento de respuesta específico del gen que será activado y que contiene secuencias TGGTCA separadas por tres pares de bases. A continuación se unen a este complejo proteínas coactivadoras como la SRC-1, integradores transcripcionales como la proteína ligadora de calcio (CBP) y la proteína identificada como P300, que exponen al promotor a la maquinaria transcripcional y aumentan la velocidad de formación y la cantidad de transcriptos. Muchos de los genes regulados por la vitamina D están implicados en la síntesis de proteínas involucradas en la formación del hueso, como la osteocalcina (proteína producida por los osteoblastos), la osteopontina (proteína que se une a la hidroxiapatita producida por los osteoclastos y cuya producción es

estimulada por $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3(\text{D}_2)$, la PTH, las enzimas CYP24, y CYP1 α y las calbindinas intestinal y renal, proteínas transportadoras que promueven la absorción de calcio por difusión facilitada (18).

La vitamina D ejerce tres importantes efectos en la homeostasis del calcio: 1) aumenta la absorción intestinal del calcio y fósforo; 2) moviliza calcio desde el hueso en coordinación con la PTH para mantener constante la calcemia; a su vez, la vitamina $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3(\text{D}_2)$ y la PTH inducen la diferenciación de células mieloides a monocitos y osteoclastos, que degradan el tejido óseo y aumentan la calcemia y, 3) en caso de hipocalcemia e hipofosfatemia estimula la reabsorción renal del calcio y fósforo dependiente de PTH, con aumento de la PTH y de la síntesis renal de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3(\text{D}_2)$ (19).

1.- El receptor de RXR, el receptor de la vitamina D (VDR) y la vitamina D interactúan para formar un heterodímero que reconoce al elemento de respuesta TGGTA en el promotor del gen a activar. 2.- La unión del coactivador SRC-1 facilita la unión de los integradores transcripcionales CBP y P300. 3.- La RNA polimerasa puede reconocer un sitio de unión en el gen para así comenzar la transcripción del gen a ser activado (20).

La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3(\text{D}_2)$ promueve la absorción intestinal de calcio al aumentar la síntesis de una "proteína fijadora de calcio" en las células epiteliales intestinales. Esta proteína actúa en el ribete estriado transportando el calcio al citoplasma de estas células. El calcio difunde en forma facilitada al espacio intercelular del epitelio a través de la membrana basolateral. La proteína fijadora de calcio permanece en los enterocitos varias semanas después que se ha movilizado la vitamina D.

4.7 La vitamina D en la salud y las enfermedades óseas

El tejido óseo es un tejido conectivo formado por células y una matriz extracelular. Las células son los osteoblastos (forman la matriz extracelular del hueso), los osteocitos (derivados de osteoblastos de

menor actividad) y osteoclastos (producen la resorción de la matriz). La matriz extracelular es rica en fibras de colágeno con precipitaciones de calcio y fósforo, conocidas como cristales de hidroxiapatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) que le dan al tejido óseo la resistencia y poca flexibilidad que lo caracterizan.

4.8 Requerimientos de vitamina D

El Food and Nutrition Board de la National Academy of Sciences de los Estados Unidos recomienda una ingesta de vitamina D de entre 200 y 600 UI (Unidades Internacionales). La ingesta alta y persistente de vitamina D o las dosis muy masivas (del orden de cientos de miles de unidades) producen una intoxicación caracterizada por hipercalciuria, hipercalcemia, calcificación de tejidos blandos y litiasis renal. No se ha comunicado que el consumo de complejos multivitamínicos que contienen hasta 400 UI de vitamina D, el consumo de un litro de leche al día (400 UI), o la exposición intensa al sol hayan sido capaces de producir fenómenos tóxicos. Los límites superiores de ingesta para vitamina D en niños de 0-12 meses son de 1.000 UI/día y para los mayores de un año de 2.000 UI/día. Para aquellas personas que viven en asilos no se recomienda exceder las 2.000 UI/día (21). La Tabla 4 muestra los valores recomendados de ingesta de vitamina D según la edad.

5. Factores condicionantes de la mineralización ósea en el niño: su relación con la osteoporosis del adulto mayor

La MO es el resultado de un proceso continuo de formación y reabsorción ósea, necesario para mantener una adecuada homeostasis del calcio y fósforo. Durante la etapa de crecimiento, la acreción de calcio al hueso es muy alta, especialmente en el último trimestre del embarazo, los primeros 2 años de vida postnatal y la pubertad. La masa ósea máxima que tendrá una persona en la edad de adulto joven es determinada en el momento de la concepción, en los genes heredados, aunque puede variar por la influencia de factores ambientales. La masa ósea máxima (MOM) se obtiene normalmente al comienzo de

EDAD	AI UI (µg)/día	RDA UI (µg)/día
0 - 6 meses	200 UI (5 µg)	300 UI (7,5 µg)
6 - 12 meses	200 UI (5 µg)	300 UI (7,5 µg)
1 - 18 años	200 UI (5 µg)	400 UI (10 µg)
19 - 50 años	200 UI (5 µg)	200 UI (5 µg)
51 - 70 años	400 UI (10 µg)	200 UI (5 µg)
≥ 71 años	600 UI (15 µg)	200 UI (5 µg)
Embarazo	200 UI (5 µg)	400 UI (10 µg)
Lactancia	200 UI (5 µg)	400 UI (10 µg)

Tabla 4. Valores de ingesta de vitamina D recomendados según edad. AI: ingesta adecuada. RDA: Recomendación dietética permitida.

la vida adulta, para iniciar una disminución paulatina e irreversible desde la cuarta década en un fenómeno propio del envejecimiento.

El esfuerzo metabólico que realizan el feto en su vida intrauterina y el niño durante el crecimiento postnatal para acumular calcio en el esqueleto es enorme. Un feto de 1 kg de peso tiene alrededor de 5,7 g de calcio, lo que representa el 0,6% de su peso, mientras que el recién nacido de término, de 3,5 kg, tiene 28,8 g de calcio, que representa el 0,8% de su peso; por otra parte, el organismo de un adulto de 70 kg contiene 1.300 g de calcio que constituyen el 1,9% de su peso corporal. Estas cifras muestran la gran acreción de calcio al hueso que se produce durante la etapa de crecimiento del ser humano, que es uno de los períodos críticos para la acumulación de MO y que es el más susceptible de sufrir una alteración frente a los efectos de una noxa que puede dejar secuelas para la vida futura.

Los principales factores que influyen la MO en el niño son:

5.1 La edad gestacional

La acreción de calcio durante el último trimestre del embarazo es muy alta, de aproximadamente 130 mg/

kg/día a las 28 semanas de gestación y de 150 mg/kg/día al final del embarazo. El recién nacido de pre-término tiene una masa mineral ósea menor que el nacido a término, tanto menor mientras más prematuro sea el nacimiento.

La leche de las madres de niños prematuros tiene menos calcio (20 a 25 mg/dl) que la leche de madres de recién nacidos de término (33 mg/dl). Aunque la biodisponibilidad del calcio de la leche materna es óptima, sin embargo este aporte es insuficiente para conseguir una adecuada MO en el prematuro. Las fórmulas maternizadas, al tener una mayor cantidad de calcio y fósforo, consiguen obtener una mejor Densidad Mineral Ósea (DMO) en el prematuro, pero sin llegar a alcanzar la normalidad. La alimentación con sustitutos de la leche, como los productos en base a soya, tampoco consigue una MO óptima. A esto se suma el hecho que es frecuente que los prematuros desarrollen complicaciones pulmonares y requieran fármacos como la furosemida, que alteran aún más el crecimiento de la MO. Los prematuros pueden recuperar el déficit de MO a los 2 años si reciben cantidades adecuadas de calcio y de vitamina D y si logran evitar las patologías con un mayor impacto metabólico.

5.2 Nutrición

a) Requerimientos de calcio y vitamina D

Los bajos niveles de ingesta de calcio llevan a una menor MO y DMO y favorecen la aparición de osteoporosis a edades más tempranas (2). Matkovic demostró que había una correlación positiva entre la ingesta y la retención de calcio entre los 2 y 30 años de edad, demostrando que las ingestas bajas se asocian con menores retenciones mientras que ingestas elevadas estaban asociadas con mayores cifras de retención de calcio a nivel del esqueleto (7). Los lactantes alcanzan altos niveles de absorción neta de calcio (40%) y tienen bajas excreciones urinarias (37 mg/día). Los requerimientos de calcio del lactante son cubiertos por la alimentación con leche materna o con fórmulas, pero necesitan recibir un suplemento de vitamina D. Entre los 2 y 8 años la absorción neta de calcio disminuye (27%) y la excreción urinaria aumenta, por lo que la retención neta disminuye. Aún con ingestas bajas de calcio (438 mg/día) muchos niños logran obtener un balance positivo mientras que cuando la ingesta es de 1.600 mg/día, el balance logrado aumenta 5 a 6 veces y, si bien las pérdidas urinarias aumentan, no lo hacen en igual magnitud, por lo que se consigue una mayor retención.

En estudios en escolares chilenos de 10 a 14 años de edad, se observó que el promedio de ingesta de calcio medido mediante tres encuestas de recordatorio de 24 horas era de 735 mg/día en los varones y 684 mg/día en las mujeres. En el 40% de los menores de 11 años y el 64% de los mayores de 11 años la ingesta de calcio estaba por debajo de la recomendación del Food and Nutrition Board, indicando que los bajos niveles de ingesta de calcio de escolares se acentúan en la adolescencia (22).

En los adolescentes, la absorción neta de calcio aumenta al 30% y si reciben ingestas de calcio muy bajas (inferiores a 500 mg/día), alcanzan un balance menos positivo que el de los niños menores. En el adulto joven la absorción de calcio disminuye y la excreción de calcio aumenta, por lo que la retención

de calcio es menor. El balance de calcio se vuelve negativo cuando la ingesta es inferior a 700 mg/día y por el contrario se hace positivo cuando sobrepasa 1.000 mg/día (5).

b) Ingesta de calcio y mineralización ósea

En un estudio se determinó la DMO mediante densitometría bifotónica en escolares de 7 a 14 años y su relación con la ingesta fue determinada mediante encuesta de recordatorio de 24 horas. Los escolares cuyos niveles de ingesta estaban por sobre la recomendación de la RDA, tenían mayor MO y DMO en mediciones en cuerpo entero que aquellos cuyos niveles de ingesta eran inferiores al 60% de la RDA y que los de aquellos cuyos niveles estaban entre 60 y 100%, lo que se mantuvo aunque como tendencia no significativa en columna y cadera (23).

c) Recomendaciones de ingesta de calcio

En gemelos idénticos, Johnston y cols. (24) demostraron que al administrar suplementos de calcio a uno de ellos por encima de los niveles recomendados por las RDA por 2 años, la densidad mineral ósea alcanzada en cadera y cuerpo entero era significativamente mayor que la del gemelo no suplementado, lo que subrayaba la necesidad de elevar la ingesta de calcio por encima de los niveles recomendados por las RDA. En la reunión de consenso en los National Institutes of Health de los Estados Unidos, se definió que la ingesta óptima de calcio para los diferentes grupos etáricos estaba en valores más altos que los definidos por las RDA, en especial para los adolescentes y adultos mayores (7).

5.3 Actividad física

En escolares de ambos sexos de 7 a 14 años de edad, se evaluó el efecto del nivel de actividad física y del tipo de deporte realizado antes y durante la pubertad sobre la MO. Los resultados permitieron concluir que en los varones la mayor actividad física favorece el establecimiento de una mejor MO, independientemente del estadio de desarrollo puberal alcanzado (25).

5.4 Estado de salud

Las enfermedades que alteran la nutrición, ya sea a través de una ingesta inadecuada de alimento o de la pérdida o malabsorción de nutrientes, disminuyen la MO. Igualmente, aquellas enfermedades que requieren períodos prolongados de reposo en cama o inmovilizaciones prolongadas, o las enfermedades crónicas, como la enfermedad colestásica crónica, disminuyen la MO.

Determinaciones de DMO en pacientes celíacos permitieron demostrar que estos enfermos tienen un mayor riesgo de osteoporosis que los controles sanos, ya que su mineralización ósea es menor incluso a pesar de una adecuada adhesión al tratamiento libre de gluten. Por otra parte, la suplementación diaria con 1.000 mg de calcio y 400 UI de vitamina D durante 24 meses, mejoró significativamente su DMO (21, 26).

Estos resultados indicarían que el déficit de mineralización que produce la enfermedad celíaca es susceptible de ser corregido, por lo menos hasta cierto nivel.

Bibliografía

1. Vio F., Albala C., Kain J.. Nutrition transition in Chile revisited: mid term evaluation of obesity goals for then period 2000-2010. *Public Health Nutr* 2008;11:405-12.
2. Larsen, E.R, Mosekilde, L., Foldspang, A. Vitamin D and calcium supplementation prevents osteoporotic fractures in elderly community dwelling residents: A pragmatic population-based 3-year intervention study. *J Bone Mineral Res* 2004;19, 370-8.
3. Muzzo S., Leiva L., Ramirez I. Masa ósea máxima de adultos jóvenes chilenos comparados con los valores de la LUNAR. *Rev Chil Nutr* 2003;30(1):53-7.
4. Atkinson, S.A., Wad, W.E.. Clinical nutrition: 2. The role of nutrition in the prevention and treatment of adult osteoporosis. *CMAJ* 2001;165, 1511-4.
5. Matkovic, V. and Ilich, J. Calcium requirements for growth. Are current recomendations adequate *Nutr Rev* 1993;51,171-80.
6. Khanal R.C., Nemere I. Regulation of intestinal calcium transport. *Annu Rev Nutr* 2008;28:179-96.
7. NIH Consensus Development Panel on Optimal Calcium Intake. Optimal calcium intake. *JAMA* 1994;272:1942-8.
8. Muzzo S. Factores involucrados en la mineralización ósea. *Rev Chil Nutr* 2001;48 (supl 1):57-70.
9. Arteaga, E., Rojas, A., Villaseca, P., Pérez, L y cols. Velocidad de disolución de diferentes preparados de calcio utilizados en clínica. *Rev Med Chile* 1996;124,1325-33.
10. Blumsohn, A., Herrington, K., Hannon, R.A., Shao, P., Eyre, D.R, and Eastell, R. The effect of calcium supplementation on the circadian rhythm of bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:730-5.
11. Piñeiro M, Asp NG, Reid G, Macfarlane S, Morelli L, Brunser O, Tuohy K. FAO Technical meeting on prebiotics. *J Clin Gastroenterol* 2008;42 (Suppl 3 Pt 2), S156-159.
12. Abrams SA, Griffin IJ, Hawthorne KM, Ellis KJ. (2007). Effect of prebiotic supplementation and calcium intake on body mass index. *J Pediatr* 2007;151, 293-298.

13. Holloway L, Moynihan S, Abrams SA, Kent K, Hsu AR, Friedlander AL. Effects of oligofructose-enriched inulin on intestinal absorption of calcium and magnesium and bone turnover markers in postmenopausal women. *Br J Nutr* 2007;97, 365-372.
14. Griffin IJ, Davila PM, Abrams SA. Non-digestible oligosaccharides and calcium absorption in girls with adequate calcium intakes. *Br J Nutr* 2002;87 Suppl 2, S187-S191.
15. Abrams SA, Griffin IJ, Hawthorne KM, Liang L, Gunn SK, Darlington G, Ellis KJ. A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 471-6.
16. DeLuca, H.F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004;80, 1689S-96S.
17. Okuda, KI, Usui, E, Ohyama, Y. Recent progress in enzymology and molecular biology of enzymes involved in vitamin D metabolism. *J Lipid Res* 1995;36, 1641-52.
18. Fleet, J.C. Genomic and proteomic approaches for probing the role of vitamin D in health. *Am J Clin Nutr*. 2004;80, 1730S-4S.
19. Van den Berg, H. Bioavailability of vitamin D. *European J Clin Nutr* 1997;151: 76-9.
20. Jones, G., Strugnell, S.A, DeLuca, H.F. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev* 1998;78, 1193-231.
21. Muzzo, S., Burrows, R., Burgueño, M., Rios G., Bergenfreid C., Chávez E., Leiva L. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone mineral density of celiac children. *Nutr Res* 2000;20(9):1241-7.
22. Leiva., L., Burrows, R. y Muzzo, S. Ingesta de calcio en escolares de 10 a 14 años. *Rev Chil Nutr* 1992;20, 207-11.
23. Leiva, L., Burrows, R., Lillo, R., Pumarino, H., y Muzzo, S. Mineralización ósea e ingesta de calcio en escolares chilenos. *Arch Latinoam Nutr* 1995;45, 178-82.
24. Jonhston, C., Miller, J., Slemenda, C.H et al. Calcium supplementation and increases in bone mineral density in children. *N Engl J Med* 1992;327, 82-7.
25. Burrows, R., Leiva, L., Lillo, R., Pumarino, H., Maya, L., Muzzo, S.. Influencia de la actividad física en la mineralización ósea de escolares de ambos sexos. *Arch Latinoam Nutr* 1996;46, 11-5.
26. Burrows, R., Leiva, L., Bargeño, M., Lillo, R., Pumarino, H., Rios, G., Chavez, E., Bergenfreid, C., Muzzo, S. Bone mineral density in children celiac disease. Its relation to puberty and calcium intake. *Nutr Res* 1999;19, 493-9.

Absorción y metabolismo intestinal de polifenoles y vitamina C

Catalina Carrasco, Maria Luisa Mizgier

Los polifenoles son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas en respuesta a distintos tipos de estrés (hídrico o salino) o de factores agresivos (bacterias, hongos, virus, radiación ultravioleta, etc.). Comprenden una gran variedad de estructuras químicas y su naturaleza y concentración varían en forma importante según las familias o especies de plantas, las condiciones geo-climáticas en que se han desarrollado y la zona anatómica del vegetal (raíz, hoja, fruta, flor, etc.). En consecuencia, los polifenoles pueden ser encontrados en grandes cantidades en alimentos y bebidas de origen vegetal de consumo habitual por la población (ver bases de datos de composición fenólica y/o de actividad antioxidante). Se ha detectado más de 4.000 compuestos fenólicos distintos que, en diversos alimentos, van desde ácidos fenólicos de bajo peso molecular hasta las proantocianidinas (PAs), altamente polimerizadas. Un gran número de estudios epidemiológicos y de ensayos clínicos avalan la importancia del consumo de polifenoles de la dieta en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles, tales como las enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, algunas patologías tumorales y la diabetes, entre otras. Estos efectos preventivos se relacionarían, entre otros, con la protección que pueden ejercer los polifenoles frente a los procesos inflamatorios y oxidativos que ocurren en estas patologías. Se ha demostrado, por ejemplo, que mejoran la salud endotelial disminuyendo la oxidación de las LDL que están involucradas en el desarrollo de la aterosclerosis. En relación con este punto, los individuos que consumen más de una taza de té al día reducen en

un 44% su riesgo cardiovascular y aquellos que toman una o dos copas de vino tinto al día también tienen un menor riesgo cardiovascular en comparación con los no bebedores. A pesar de que los polifenoles son conocidos como antioxidantes y de que existe amplia evidencia de una asociación positiva entre el consumo de alimentos ricos en polifenoles y el menor riesgo cardiovascular, es importante mencionar que aún no se ha podido establecer que dicho efecto benéfico sobre la salud resida exclusivamente en sus propiedades antioxidantes. Tampoco está claro si estos efectos protectores se deben a la presencia de algunos polifenoles en particular o si existen efectos aditivos o sinérgicos entre ellos, que hacen que el espectro de su mezcla en el vegetal sea importante para determinar dichos efectos. Por otra parte, el proceso de envejecimiento del organismo se asocia con cambios complejos a nivel morfológico y funcional que pueden favorecer el desarrollo de enfermedades tales como el cáncer y las enfermedades degenerativas. La prevención de dichas enfermedades mediante el consumo de alimentos ricos en polifenoles es objeto de un creciente interés debido a que ciertos compuestos tienen propiedades antiproliferativas y antitumorales, mientras que otros podrían modular las funciones cognitivas del individuo. El consumo de café, por ejemplo, ha sido relacionado con una menor pérdida de la función cognitiva en los ancianos y parece reducir el riesgo de enfermedad de Parkinson.

Dada su amplia diversidad estructural, los polifenoles han sido divididos en cuatro clases principales: los flavonoides (antocianidinas, flavonoles, flavano-

nas, flavan-3-oles, isoflavonas y flavonas) (Figura 1), los ácidos fenólicos, los lignanos y los estilbenos (Figura 2). Los flavonoides, a excepción de los flavan-3-oles, se encuentran ampliamente presentes en forma glicosilada en las frutas y verduras, es decir, están unidos a un grupo glicosilo, mono- o disacárido. La biodisponibilidad y las propiedades biológicas de los polifenoles son muy variadas y dependen de su estructura química, en particular del número y posición de los grupos hidroxilo, de la presencia del heterociclo y de su estructura y del tipo de glicosilación. Sin embargo, la mayoría de los estudios clínicos realizados para determinar la absorción, metabolismo y efectos de los polifenoles en el ser humano han considerado sólo un número limitado de estos compuestos, lo cual está muy lejos de reflejar su diversidad en la dieta.

Los flavonoides conjugados no pueden ser absorbidos directamente por el intestino delgado y requieren ser hidrolizados para liberar su fracción aglicona, proceso que puede ser llevado a cabo mediante la

acción de la lactasa-florizina hidrolasa (LPH) presente en el ribete estriado de los enterocitos. Este complejo enzimático, que también está involucrado en la hidrólisis de la lactosa, exhibe una amplia especificidad de sustratos del tipo flavonoides-glucósidos (es decir aquellos flavonoides unidos a glucosa). Su acción libera la aglicona en la proximidad de la membrana celular apical, facilitando su entrada a las células epiteliales. Dicho fenómeno ocurre por difusión pasiva, gracias a la lipofilidad de las agliconas, en comparación con su derivado glicosilado. Alternativamente, algunos flavonoides-glucósidos podrían ingresar al enterocito utilizando el co-transportador glucosa-sodio (SGLT1); una vez en el citoplasma de la célula, serían hidrolizados por otra enzima citosólica, la β -glucosidasa (CBG).

La absorción de los compuestos fenólicos también involucra a proteínas asociadas con la multiresistencia a drogas (MRP1 y MRP2). MRP1 está presente en la membrana basolateral de los enterocitos y favorece el transporte de los flavonoides desde el interior de las células epiteliales intestinales hacia la circulación. MRP2 es un transportador ubicado en la membrana apical de los enterocitos y modula la absorción intestinal de los flavonoides al reexportarlos desde el interior de la célula hacia el lumen.

Antes de pasar al torrente sanguíneo, las agliconas pueden sufrir transformaciones químicas en los enterocitos que dan origen a sulfatos, glucuronidos y/o metilos a través de la acción de las sulfotransferasas (SULT), uridina-5'-difosfato glucuronosiltransferasas (UGT) o de la catecol-O-metiltransferasa (COMT), respectivamente. En el caso de los derivados producidos en los enterocitos, las agliconas o sus derivados pueden ser captados por el hígado donde pueden sufrir nuevamente procesos metabólicos de fase II. Los compuestos formados pueden regresar al lumen del intestino delgado mediante su excreción por la bilis, en un proceso de circulación enterohepática. Se estima que sólo el 5 a 10% de los polifenoles consumidos se absorben en el intestino delgado, de los cuales el 90 al 95% ingresa a la circulación en forma de conjugados metilados, sulfatados y glucuronizados, y el 5 a 10% restante en su forma aglicona.

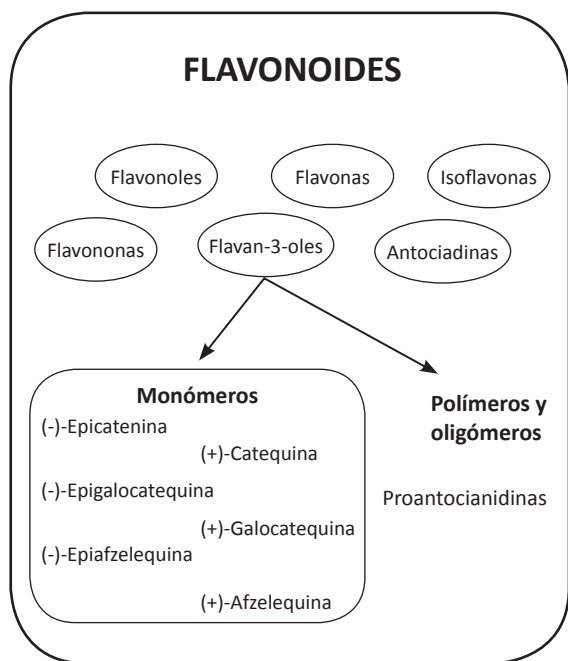


Figura 1. Clasificación de los flavonoides.

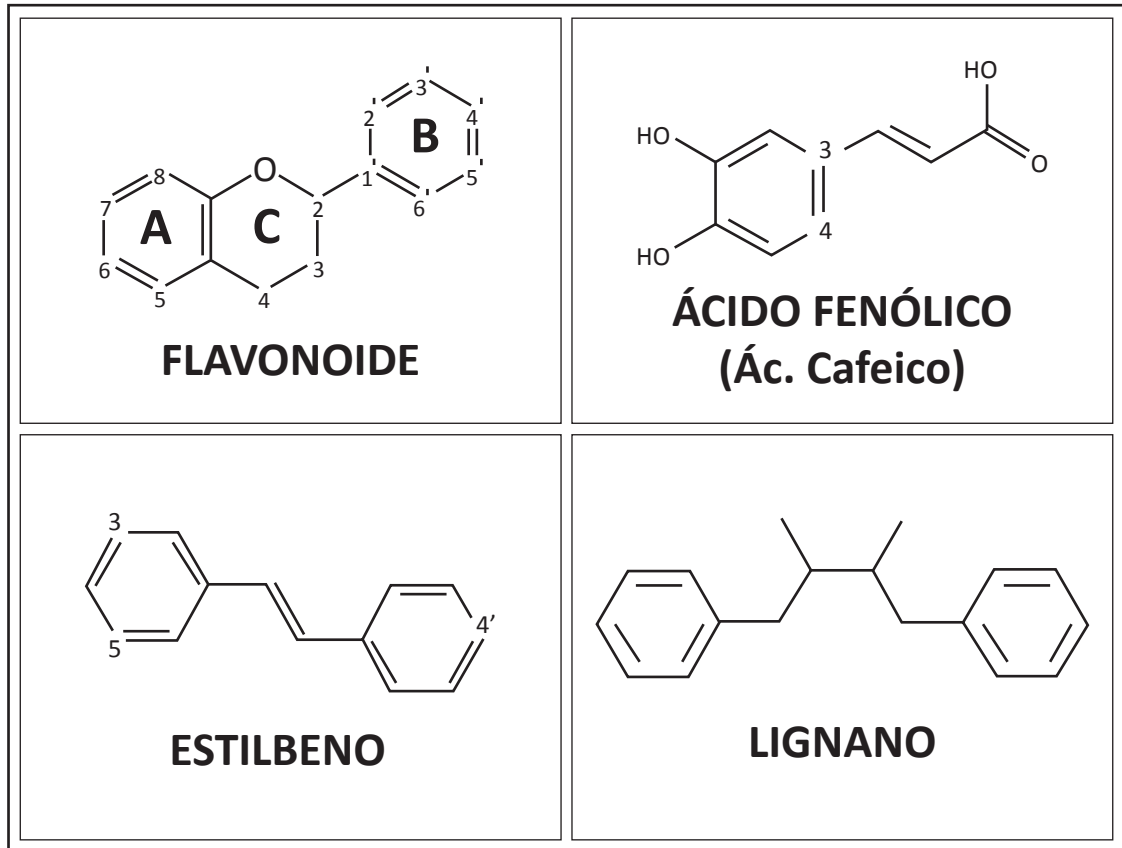


Figura 2. Estructura de los polifenoles.

Los flavonoides y sus metabolitos que no son absorbidos en el intestino delgado, que son exportados desde el enterocito hacia el lumen por MRP2 o que son secretados por la bilis, pueden llegar al colon donde son metabolizados por la microbiota intestinal. Dicha microbiota está constituida por alrededor de 10^{14} microorganismos que pertenecen a más de 1.000 géneros y/o especies distintas, que representan un enorme potencial metabólico. Estos microorganismos pueden expresar una enorme diversidad de actividades enzimáticas que les permite adaptarse en forma rápida a una gran variedad de sustratos, incluyendo a los polifenoles. Estas bacterias están involucradas en procesos de hidrólisis, deshidroxilación, desmetilación, ruptura de anillos, descarboxi-

lación y desconjugación. Los flavonoides pueden ser desglucosilados por la microbiota colónica y sus agliconas pueden ser absorbidas sin cambios o sufrir la fisión del anillo A, resultando en la formación de ácidos fenólicos absorbibles. Estos ácidos se excretan en grandes cantidades en la orina y generalmente sus concentraciones están muy por encima de aquellas de los flavonoides que entraron a la circulación por el intestino delgado (Figura 3).

A continuación se detallan las principales características relacionadas con la absorción y metabolismo de los distintos tipos de flavonoides, ácidos fenólicos y otras moléculas con propiedades antioxidantes en el ser humano, como es la vitamina C.

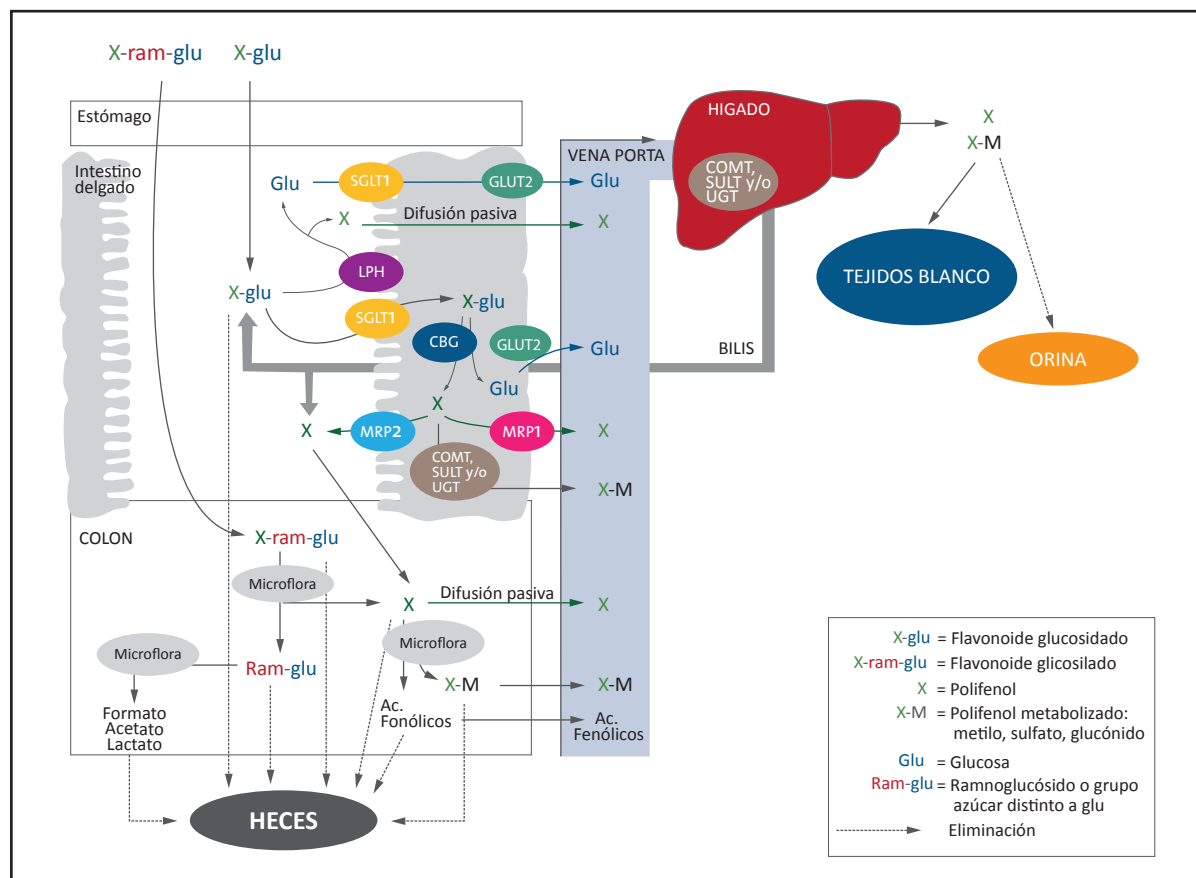


Figura 3. Esquema de la absorción y metabolización de los flavonoides.

Flavonoides

1. Antocianidinas

Los antocianos (Figura 4) son pigmentos que se encuentran principalmente en la cáscara de frutos como las frutillas, arándanos, cerezas, etc. y que son responsables de sus colores rojo y azul. Estos compuestos juegan un papel importante en la atracción de los insectos polinizadores y en la difusión de las semillas por los animales; también son importantes en la atracción que puede sentir el ser humano por consumir frutas de colores vivos, sus jugos y el vino. A diferencia de otros polifenoles, la concentración

de las antocianinas se incrementa rápidamente en las frutas a medida que van madurando. Las antocianinas unidas con un azúcar por un enlace glucosídico que involucra el grupo hidroxilo en C3 de su anillo C se llaman antocianinas. Las antocianinas más abundantes son la cianidina, la pelargonidina, la delfinidina y la peonidina, que están conjugadas principalmente con glucosa, galactosa y arabinosa. Hasta la fecha han sido identificadas más de 400 antocianinas naturales, por lo que la ingesta diaria de varios miligramos no se considera excepcional. Se estima que el consumo diario de antocianinas en la dieta finlandesa alcanza los 82 mg, siendo sus prin-

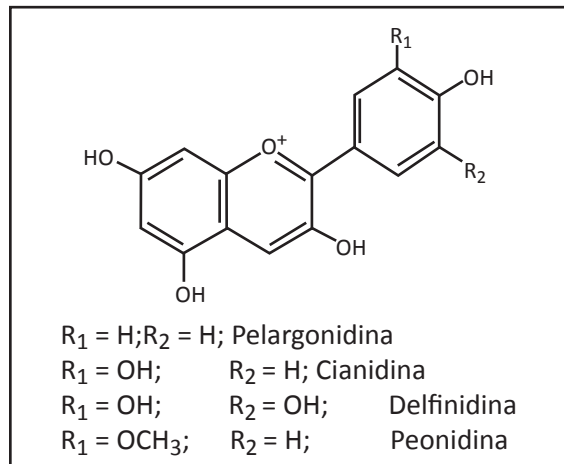


Figura 4. Estructura de las antocianidinas.

principales fuentes los berries, el vino tinto y los jugos de frutas, mientras que en la dieta francesa estos aportes alcanzan 57 mg por día, principalmente a través del consumo de vino tinto, frutos rojos y uva negra (Tabla 1). Cabe mencionar que hasta la fecha, no existen datos del aporte de polifenoles en la dieta chilena.

Comparada con la de otros flavonoides, la biodisponibilidad de las antocianinas es relativamente baja. Por ejemplo las concentraciones plasmáticas de antocianinas una hora y media después de consumir 0,15 a 2 gramos de berries, sólo alcanzan los 10 a 50 nM en voluntarios, lo que sugiere que la mayor parte de ellas no es absorbida o bien, que son metabolizadas antes de alcanzar la circulación y no pueden ser detectadas como tales, o que poseen una corta vida media. La excreción urinaria de antocianinas también es baja, entre 0,004 y 0,1% de la dosis ingerida dos horas y media después de su administración. La secreción biliar interviene como la otra posible vía de eliminación de estos compuestos. Luego de su absorción intestinal, los principales metabolitos de las antocianinas detectados en la orina y el plasma son conjugados glucuronidos y metilados, mientras que las agliconas y los sulfatos han sido identificados sólo como compuestos menores. Las antocianinas no absorbidas en el tracto gastrointestinal proximal son degradadas y/o biotransformadas por la microbiota intestinal en el colon, generando aldehídos y ácidos fenólicos que son absorbidos a través de la mucosa colónica, pero que resultan difi-

Clase de polifenoles	Ingesta total de polifenoles ¹ (mg/d por persona)	Principales fuentes alimenticias (% de contribución a la ingesta de la subclase de polifenoles)
Ácidos hidrocinnámicos	599 ± 426	Café (83), papas (4), manzanas (2), endivias (2)
Proantocianidinas	227 ± 162	Manzanas (31), cacao (18), vino tinto (12), frutillas (8)
Catequinas	99 ± 116	Té (71), vino tinto (10), manzanas (6), cacao (5)
Antocianinas	57 ± 47	Vino tinto (41), cerezas (23), frutillas (20), uvas negras (6)
Flavonoles	51 ± 28	Té (23), cebollas (23), espinacas (13), vino tinto (12)
Ácidos hidroxibenzoicos	41 ± 39	Té (49), vino tinto (15), endivias (9), nueces (8)
Flavonas	33 ± 17	Productos de harina de trigo refinada (64), productos de harina integral de trigo (20), naranjas (6), jugo de naranja (5)
Flavanonas	26 ± 29	Naranjas (50), jugo de naranja (44), vino tinto (3), jugo de pomelo (2)

¹ Promedio ± Desviación Estándar.

Tabla 1. Ingesta de las principales clases de polifenoles y sus principales fuentes alimentarias en un estudio de cohorte francés (4.942 participantes). Adaptado de Pérez-Jiménez et al., 2011.

cilmente detectables en el plasma o en la orina. No obstante, la degradación de las antocianinas por la microbiota ocurriría en menor grado en comparación con otros flavonoides.

2. Flavonoles

Los flavonoles (Figura 5) tienen un papel protector frente a la exposición a la radiación UV, por lo que su concentración en las plantas se incrementa rápidamente a medida que aumenta su exposición a la luz solar. Se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, en las manzanas, berries, uvas, hortalizas del género Brassica, alcaparras, cebollas, tomates y el té, así como también en semillas y frutos secos (nueces, almendras, avellanas). Se estima que la ingesta diaria de flavonoles alcanza 20-80 mg en la población occidental, mayoritariamente bajo la forma de quercetina, kaempferol y miricetina glicosiladas. El principal flavonol de la dieta es la quercetina, con aportes diarios cercanos a los 20 mg en la dieta francesa (Tabla 1). La quercetina es particularmente abundante en las cebollas (0,3 mg/g de peso fresco) y el té (10-25 mg/L), que representan las principales fuentes de flavonoles en la dieta francesa y holandesa. Cabe destacar que el término quercetina es usado genéricamente para referirse a las moléculas del

tipo quercetina incluyendo a sus glicósidos, cuando en rigor debería ser usado sólo para describir a la aglicona.

La biodisponibilidad de la quercetina es alta; por ejemplo una hora después del consumo de cebollas (con ~68 mg de este flavonol), su concentración plasmática en voluntarios alcanza niveles relativamente altos, del orden de 0,7 a 1 μM . Los glicósidos de quercetina se encuentran en la dieta en cantidades mucho mayores que la aglicona de la quercetina. Cuando se ingieren glicósidos de quercetina, el azúcar unido puede liberarse durante la masticación, la digestión o la absorción. Las β -glucosidasas presentes en la boca y en el intestino y la LPH pueden hidrolizar los glicósidos de la quercetina hasta la aglicona; por lo tanto, la exposición *in vivo* a la quercetina aglicona es mayor que lo que se esperaría basándose sólo en su contenido en los alimentos. La aglicona es más lipofílica que su forma glicosilada por lo que es más susceptible de atravesar la membrana del enterocito por simple difusión. La biodisponibilidad de los flavonoles tipo quercetina es fuertemente influenciada por su grado de glicosilación y la naturaleza del azúcar. Por ejemplo, la quercetina conjugada con glucosa (quercetina-4'-O-glucósido), que se encuentra en las cebollas, se absorbe en el intestino delgado previa desglicosilación por la LPH en el ribete estriado. En este caso la quercetina es absorbida muy rápidamente y su T_{max} (tiempo al cual se alcanza la máxima concentración plasmática luego del consumo) es de tan sólo una hora. Por el contrario, si la quercetina está conjugada con ramnosa-glucosa, como en el caso de la rutina (quercetina-3-O-ramnoglucósido) que se encuentra en el jugo de tomates, no se absorbe en el intestino delgado debido a que el disacárido ramnosa-glucosa no es sustrato de la LPH; por lo tanto, este flavonol llega intacto al colon donde las α -ramnosidasas de la microbiota remueven el grupo glicosilo (Figuras 6 y 7). En este caso la absorción de quercetina se posterga hacia los segmentos distales del tubo digestivo, siendo su T_{max} cercano a las 5 horas. Se ha propuesto que el consumo simultáneo de fibra soluble (pectina, oligosacáridos) podría mejorar la absorción de la quercetina administrada como glicósido. Posiblemente

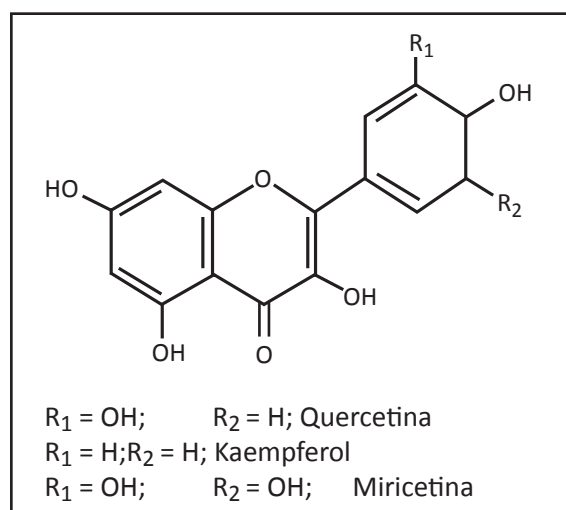


Figura 5. Estructura de los flavonoles.

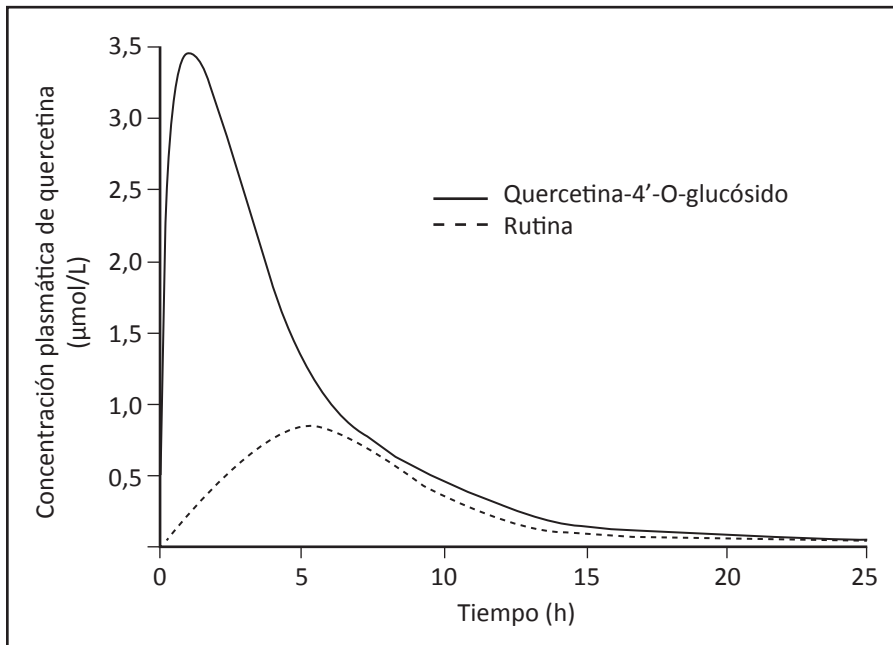


Figura 6. Curva de concentración plasmática de quercetina vs tiempo, luego de la absorción de quercetina-4'-O-glucósido (150 mg) o rutina (190 mg). Adaptación de Hollman et al., *Free Radic Res* 1999 y de Olthof et al. *J. Nutr.* 2000.

debido a que la fibra estimula el crecimiento de poblaciones bacterianas cuyas actividades enzimáticas hidrolizan los glicósidos de flavonoles, se liberan las agliconas, las cuales pueden ser absorbidas. Los glucósidos de quercetina se absorben de manera más eficiente que los ramnoglucósidos (rutina); por lo tanto, las cebollas ricas en glucósidos son mejores fuentes de quercetina biodisponible que las manzanas, el té y los tomates que contienen rutina u otros tipos de glicósidos que no son sustratos de la LPH. La vida media de la quercetina es bastante larga (11-28 horas) por lo cual tras la administración de dosis repetidas ésta se acumula en el plasma donde alcanza altas concentraciones. Cabe mencionar que la quercetina se puede acumular en los glóbulos rojos, por lo que la determinación de su biodisponibilidad puede ser subestimada. Dado que tan sólo después de una hora del consumo de cebollas se encuentran en el plasma sus metabolitos sulfatados y glucuronizados, es probable que la metabolización de la quercetina tenga lugar en el enterocito antes de ingresar a la circulación. Otros metabolitos, sulfato-glucurónidos o diglucurónidos se encuentran en el

plasma o en la orina en forma más tardía, lo cual sugiere que también existe metabolización de fase II en el hígado.

Los polifenoles que no se absorben en el intestino delgado, aquellos que han sido excretados en la bilis y los que son exportados por MRP2 desde el enterocito hacia el lumen, llegan directamente al colon. El metabolismo microbiano en el colon de los derivados de quercetina no absorbibles en el intestino proximal ha sido descrito en detalle. Poblaciones de *Bacteroides* (*B. distasonis*, *B. uniformis* y *B. ovatus*) de la microbiota colónica expresan actividades α -ramnosidasas y β -glucosidasas que hidrolizan a los glicósidos de quercetina y liberan la aglicona. Los azúcares liberados pueden ser fermentados por poblaciones de *Enterococcus*, produciendo formiato, acetato y lactato mientras que la aglicona puede ser transformada por poblaciones de *Eubacterium ramulus* en ácidos fenólicos simples, acetato y butirato, que pueden ser absorbidos. La excreción urinaria de estos metabolitos microbianos representa hasta un 50% de la rutina ingerida por voluntarios.

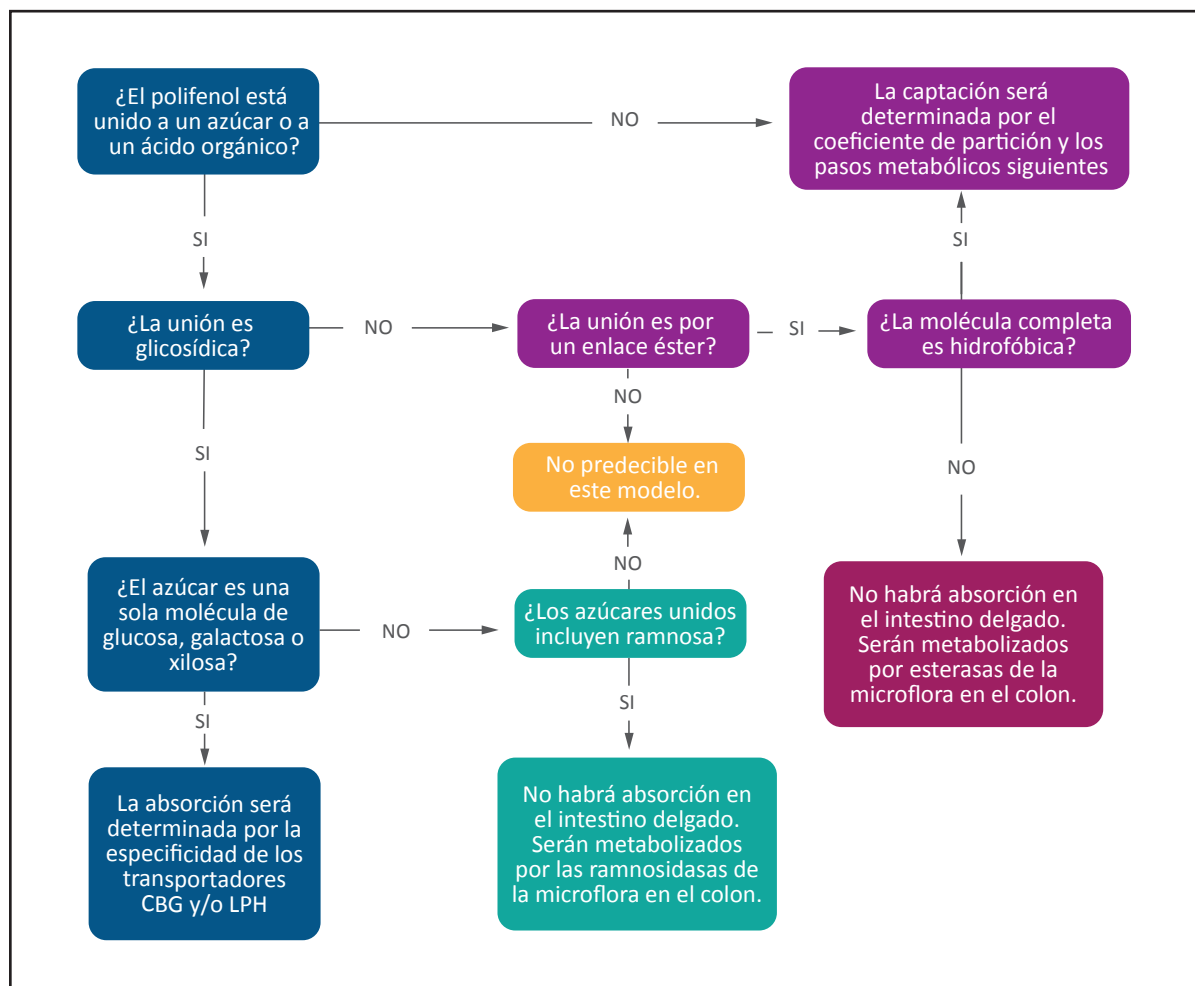


Figura 7. Hipótesis de la absorción de los flavonoides. CBG: β -glucosidasa citosólica; LPH: lactasa floridzina hidrolasa.

3. Flavanonas

Las flavanonas (Figura 8) representan un pequeño grupo de compuestos llamados flavonoides cítricos, los cuales incluyen los ramnoglicósidos (también llamados rutinósidos) de hesperetina (hesperidina), presentes en las naranjas y los glicósidos de naringenina (naringina o narirutina) presente en los pomelos. Se estima que el consumo diario de flavanonas en la dieta francesa alcanza a los 26 mg a través de fuentes como las naranjas, el jugo de naranjas, el

vino tinto y el jugo de pomelos (Tabla 1). Los metabolitos de las flavanonas sólo son detectables 5 horas después de haber ingerido cítricos, período que corresponde al tiempo necesario para la hidrólisis de la hesperidina, naringina y narirutina por la microbiota del colon y la liberación y posterior absorción de las agliconas (Figura 7). Las flavanonas agliconas, en cambio, se absorben más rápidamente; por ejemplo se ha observado que tras el consumo de un concentrado de tomate, particularmente rico en na-

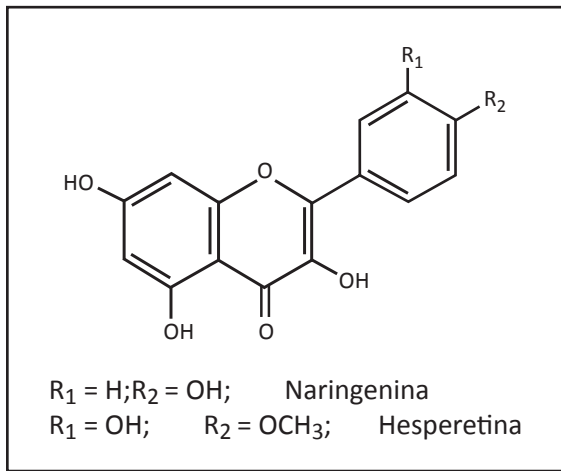


Figura 8. Estructura de las flavanonas.

ringenina, el T_{max} es de tan sólo 2 horas, sugiriendo que esta aglicona se absorbe a nivel proximal.

Las principales formas de flavanonas presentes en el plasma después del consumo de jugo de naranja, son metabolitos monoglucurónidos de hesperetina. Además de estos metabolitos, en la orina también se encuentran la hesperetina-O-glucurónido-O-sulfato y la hesperetina-O-diglucurónido. Estas diferencias entre los metabolitos en el plasma y la orina reflejan que la hesperetina sufre transformaciones de fase II no sólo en el enterocito sino también en el hígado. En el colon, la microbiota puede liberar la hesperetina y romper su anillo A, generando diversos ácidos fenólicos, o bien puede ser absorbida y glucuronizada en la mucosa colónica.

4. Flavan-3-oles

4.1 Monómeros de flavan-3-oles

Se estima que la ingesta diaria de los monómeros de flavan-3-oles o catequinas (Figura 9) llega a 99 mg en la dieta francesa, siendo las principales fuentes el té, el vino tinto, las manzanas y el cacao (Tabla 1). El té verde y el cacao son los alimentos más utilizados en los estudios de biodisponibilidad de estos flavonoides. Cabe destacar que los flavan-3-oles son los

únicos flavonoides que no están presentes en forma glicosilada en los alimentos y por lo tanto, a diferencia de los demás polifenoles de la dieta, no necesitan ser desglicosilados por la CBG o la LPH para ser absorbidos (Figura 7). En cambio, los flavan-3-oles pueden ser esterificados, con ácido gálico (galoilación), como es el caso de la epicatequingalato y de la epigalocatequingalato (EGCG).

La biodisponibilidad de los monómeros de flavan-3-oles difiere notablemente entre los distintos compuestos y se ha mostrado que la galoilación reduce su absorción. De hecho, mientras que la epigalocatequina (EGC) y la EGCG están presentes en concentraciones similares en una infusión de té verde o en el cacao, tras el consumo de estos productos la concentración plasmática de EGC es aproximadamente 2,3 veces mayor que la de EGCG. Es posible que esterasas salivales puedan desgaloilar la EGCG, transformándola en EGC, aumentando su biodisponibilidad. La (+)-catequina y más aún la (-)-epicatequina son altamente biodisponibles, siendo absorbidas y excretadas en mayor proporción que otros flavonoides. La estereoquímica es un factor importante para determinar la absorción de los flavan-3-oles. Por ejemplo la (+)-catequina tiene mayor afinidad que la epicatequina por las proteínas ricas en prolina de la saliva, lo cual disminuye su posterior absorción. De hecho, la concentración plasmática máxima de la catequina es tan sólo el 10% de aquella de la epicatequina luego del consumo de cacao, que contiene igual proporción de ambos compuestos.

Los flavonoides entran por difusión pasiva al enterocito en donde son metilados y/o glucuronizados. Estas moléculas no sufren en forma importante metabolismo de fase II en el hígado, a diferencia de la quercetina y de las flavanonas. En el plasma los monómeros de flavan-3-oles se pueden encontrar tanto en su forma no metabolizada como metabolizada; por ejemplo, del 77 al 90% de la EGCG se encuentra como tal y 15 a 23% en forma dimetilada, mientras que alrededor del 30 a 40% de la EGC está en su forma metilada; la catequina puede ser detectada en su forma metilada mientras que la epicatequina se encuentra principalmente glucuronizada.

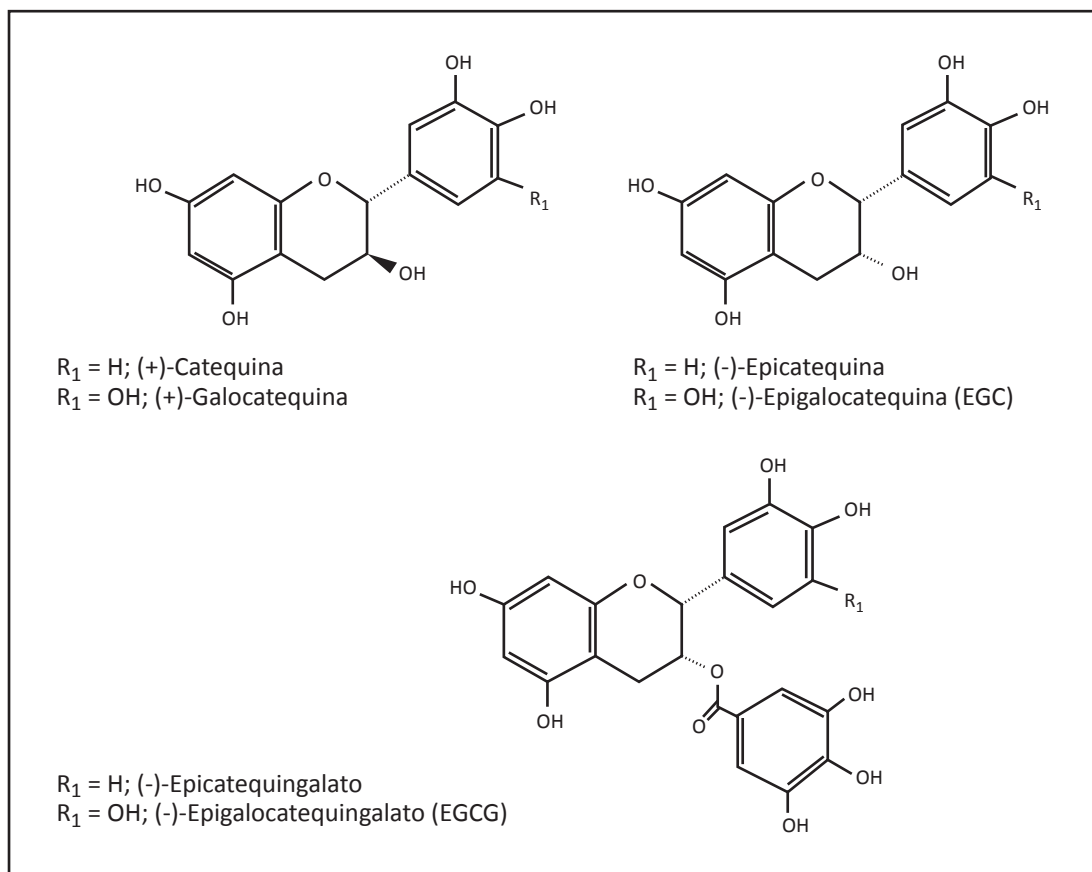


Figura 9. Estructura de monómeros de flavan-3-oles.

Los flavan-3-oles que llegan al colon pueden ser metabolizados por la microbiota intestinal formando principalmente metabolitos del tipo hidroxifenil valerolactona. Estos metabolitos han sido identificados en el plasma y la orina de voluntarios, sobre todo en sus formas conjugadas después del consumo de té verde. Representan entre el 6 y el 39% de la dosis de EGC y epicatequina ingerida y sus concentraciones plasmáticas superan en 8 a 25 veces los niveles de estos flavan-3-oles. Además, la vida media de estos metabolitos microbianos es mayor que la de las catequinas (1-3 horas), por lo cual sus actividades biológicas serían más prolongadas.

4.2 Polímeros de flavan-3-oles (proantocianidinas o procianidinas)

Estos polímeros también son llamados taninos condensados (no-hidrolizables) ya que resultan de la condensación de flavan-3-oles como la catequina y la epicatequina (Figura 10). El término “tanino”, se utilizaba originalmente para designar ciertas moléculas vegetales capaces de convertir la piel de los animales en cuero, proceso que se conoce como curtido (tanning en inglés). La presencia de altas concentraciones de proantocianidinas (PAs) en los alimentos se asocia con cierto grado de astringencia. Las PAs son abundantes en las frutas, leguminosas, cereales, ca-

cao, en la cutícula externa de los frutos secos, en la cáscara de las manzanas y peras y en bebidas como el vino, el té, el café y la sidra. Estudios de cohortes realizados en Finlandia y en Francia indican que el consumo diario de PAs en estos países es de 116 mg y 227 mg (Tabla 1), respectivamente, siendo estos polifenoles los más consumidos después de los ácidos fenólicos.

Las PAs tienen la capacidad de interactuar con las proteínas y precipitarlas, particularmente a las proteínas básicas ricas en prolina (PRP), que están presentes en la saliva y en la piel; esta capacidad le otorga a los alimentos ricos en PAs su característica de “astringente” y explica el uso de estos compuestos para curtir pieles. El grado de polimerización (DP) y el tamaño de las PAs son muy variables y dependen de la cantidad de monómeros de flavan-3-oles. Por ejemplo, en las grosellas negras (*Ribes nigrum*), el DP promedio es de aproximadamente 48, mientras que es sólo 7 en el vino y 2 en la cerveza. Alrededor del 73% de las PAs consumidas diariamente tienen un DP > 3.

La biodisponibilidad de las PAs es extremadamente baja, de hecho casi no son absorbidas como tales. Sólo los oligómeros de bajo peso molecular (DP ≤ 3, aprox.) pueden ser absorbidos intactos en el tracto gastrointestinal. Por ejemplo, tras el consumo de un extracto de pepa de uva y de cacao rico en flavan-3-oles se han detectado dímeros de PAs en el plasma de voluntarios. Las PAs de alto peso molecular (DP > 3) llegan sin modificaciones al colon, donde son metabolizadas por la microbiota, produciendo principalmente ácidos fenólicos tales como los ácidos 3-hidroxifenilpropiónico, 3-fenilpropiónico, 4-hidroxifenilpropiónico y 4-hidroxifenilacético, que pueden ser absorbidos y ejercer efectos fisiológicos a nivel sistémico. El metabolismo bacteriano de las PAs de manzanas es mayor a partir de la fruta entera o de la sidra que a partir de las PAs aisladas; una explicación para esta observación sería la presencia de fibra soluble en la fruta o la sidra, que eventualmente podría estimular el crecimiento de poblaciones bacterianas involucradas en dicho proceso. Por otro

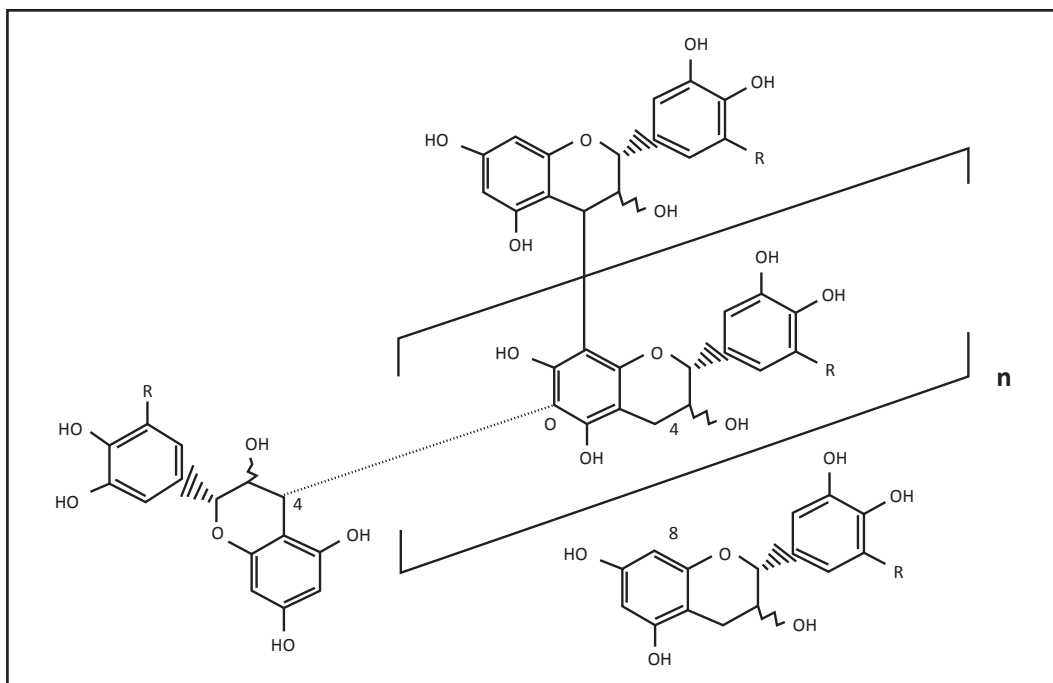


Figura 10. Estructura de los polímeros de flavan-3-oles.

lado, es probable que las PAs puedan también ejercer directamente en el tubo digestivo sus efectos beneficiosos para la salud, protegiendo a la mucosa del estrés oxidativo, del desarrollo de procesos inflamatorios y del efecto deletéreo de agentes carcinógenos.

5. Flavonas

Las flavonas (Figura 11) son una clase de flavonoides que incluyen, entre otros a la luteolina y la apigenina. Se estima que en la dieta occidental el consumo diario de flavonas varía entre 20 y 50 mg (33 mg/día en la dieta francesa, por ejemplo) (Tabla 1). Las flavonas se encuentran en los vegetales unidas principalmente a glucosa y en menor grado a galactosa, ramnosa, arabinosa y xilosa, formando 7-O-glicósidos o, en menor cantidad, C-glicósidos (cuando el azúcar está directamente unido a un átomo de carbono del anillo aromático).

La luteolina y la apigenina son compuestos amarillos que han sido identificados en el pimiento rojo y en el apio, respectivamente. La apigenina es abundante en las naranjas, pomelos, perejil, cebolla, vino, cerveza, infusiones de té y de manzanilla; esta última contiene entre 0,8 y 1,2% de apigenina. La luteolina está ampliamente distribuida en el reino vegetal y sus fuentes en la alimentación incluyen las zanahorias, pimentones, apio, aceite de oliva, menta, tomillo, romero, orégano, lechuga, granada, alcachofa, cacao, nabo, alcaparra y pepino. También se la ha identificado en menor cantidad en los limones, remolacha, coles de bruselas, repollo, coliflor, cebollin, hinojo, perejil, espinacas y té verde.

La luteolina-glucósido no se absorbe como tal sino que es hidrolizada por la LPH, liberando la aglicona que es captada por los enterocitos en el intestino proximal. A continuación la luteolina puede pasar a la circulación como aglicona o puede ser glucuronizada en la célula epitelial antes de ser liberada al torrente sanguíneo. La concentración plasmática máxima de luteolina se alcanza 1 a 2 horas después de la ingesta y permanece alta durante varias horas.

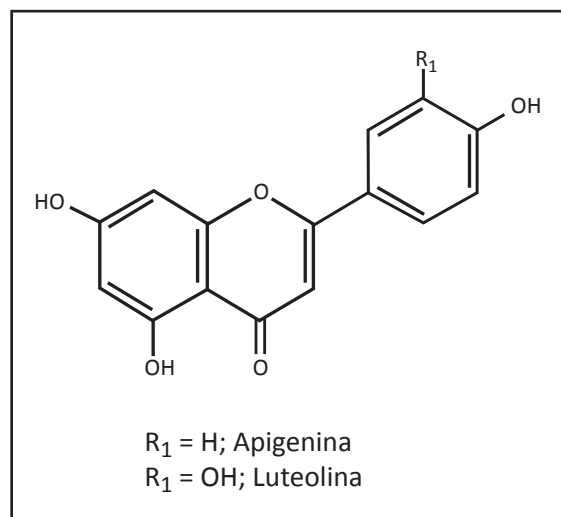


Figura 11. Estructura de las flavonas.

6. Isoflavonas

Las isoflavonas (Figura 12) son flavonoides conocidos como fitoestrógenos que, debido a sus propiedades biológicas, están entre los polifenoles más estudiados. Las isoflavonas se encuentran principalmente en la soja y sus derivados y por lo tanto, su importancia nutricional es mayor en los países asiáticos que en los occidentales. En las poblaciones asiáticas, el alto consumo de soja explicaría en parte la menor prevalencia de enfermedades cardiovasculares, cánceres estrógeno-dependientes (mama y próstata), cáncer colorectal, síntomas menopáusicos y osteoporosis. El consumo de soja en la dieta asiática incluye los porotos, brotes, harina, fideos, leche, tofu y una gran cantidad de productos fermentados como el miso, tempeh, nattō, salsa de soja, etc. llegando a alcanzar los 35 g por día, lo que equivale a una ingesta diaria de 25 a 100 mg de isoflavonas totales. En cambio, en los países occidentales el consumo de soja es mucho menor y principalmente en forma de proteínas (harinas, sémolas, leches, concentrados y proteína de soja texturizada) con una ingesta diaria inferior a 1 mg de isoflavonas. Dependiendo de la preparación de la soja, las isoflavonas pueden estar presentes como agliconas

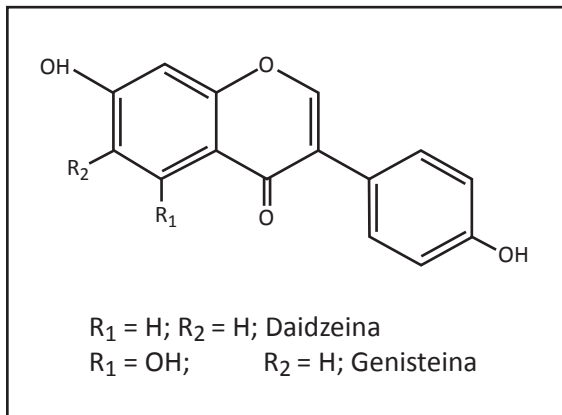


Figura 12. Estructura de las isoflavonas.

(daidzeína, genisteína), o como derivados glicosilados o conjugados (acetil- y malonil). En los porotos de soya y en otros productos en base a proteína de soya, el 97-98% de las isoflavonas están presentes como conjugados esterificados. La soya contiene agliconas que se absorben en el intestino delgado e isoflavonas glicosiladas que son hidrolizadas a nivel del duodeno y el yeyuno proximal por la LPH y la CBG. Las agliconas de las isoflavonas son absorbidas rápidamente en el intestino proximal por difusión pasiva y son detectables en el plasma después de tan sólo 30 minutos del consumo de soya (T_{\max} de una hora). Estos son algunos de los polifenoles mejor absorbidos, con una excreción urinaria de metabolitos de alrededor del 20-50% de la dosis ingerida. En el hígado las agliconas pueden ser metabolizadas y transformadas en derivados metilados, sulfatos y glucuronidos. Estos metabolitos pueden llegar al intestino por la circulación enterohepática o bien ser excretados por la orina.

Las isoflavonas glicosiladas que no son absorbidas en el intestino delgado llegan al colon, donde son hidrolizadas y metabolizadas por las β -glicosidasas bacterianas formando metabolitos secundarios como el equol, mediante la reducción de la daidzeína, y la O-desmetilangolensina (ODMA) y la 6'-hidroxi-O-desmetilangolensina (6'ODMA), mediante la ruptura del anillo de la daidzeína y la genisteína respectivamente. Sólo el 30-40% de los occidentales

y el 45-65% de los asiáticos poseen en su microbiota intestinal las poblaciones bacterianas capaces de producir equol. El equol es el metabolito bacteriano con mayor actividad biológica; puede ser absorbido y ejercer actividades antioxidantes y estrogénicas a nivel sistémico.

Ácidos fenólicos

1. Ácidos hidroxicinámicos

Los ácidos hidroxicinámicos se encuentran en casi todas las plantas y son uno de los polifenoles más abundantes. Están presentes en los vegetales en forma de conjugados, principalmente ésteres y amidas, y rara vez en forma libre o glicosilada. Se estima que el consumo diario de ácidos hidroxicinámicos en la población francesa es de 599 mg, siendo de esta forma los polifenoles más abundantes en la dieta de esta población (Tabla 1). El principal representante de estos compuestos es el ácido cafeico que se encuentra en los alimentos en forma esterificada con ácido quínico, llamada ácido clorogénico. El café representa la principal fuente de ácido clorogénico en la dieta: 12% de la materia seca del grano verde de café (sin tostar); de hecho, los consumidores de café ingieren al día entre 0,5 a 1 gramo de ácido clorogénico, mientras que los no consumidores ingieren tan sólo 100 mg. Otro ácido hidroxicinámico abundante en el reino vegetal es el ácido ferúlico. Se encuentra en alta cantidad y en forma esterificada o arabinoxilada en la pared de los granos de cereal y bajo esta forma es insoluble. Al contrario, en los tomates y la cerveza el ácido ferúlico está en su forma libre, la cual es más soluble y puede ser absorbida de manera más eficiente. Los ácidos hidroxicinámicos esterificados son menos absorbibles en el intestino delgado y pueden ser hidrolizados por esterasas bacterianas en el colon.

2. Ácidos hidroxibenzoicos

Pese de que los ácidos hidroxibenzoicos (HBAs) tienen una distribución limitada en los alimentos, se estima que su consumo diario en la población francesa alcanza los 41 mg a través de fuentes como el té, el vino tinto, las endivias y las nueces (Tabla 1).

El ácido gálico, un importante representante de los HBAs (10-60 mg/L en el vino tinto), se encuentra como tal en estos alimentos, o bien formando dímeros (ácido elágico), trímeros (ácido tergálico) o tetrámeros (ácido galálico), siendo estos dos últimos escasos en el reino vegetal. Los ácidos gálico y elágico pueden ser esterificados con monómeros (como en el té negro) y polímeros de flavan-3-oles y/o con ácido quínico (teogalina). Los HBAs están presentes en los vegetales generalmente en su forma conjugada, aunque también se los puede encontrar -en bastante menor proporción- en su forma libre, por ejemplo en los caquis. Estudios con ácido gálico han mostrado que este HBA, es absorbido en una proporción considerable en comparación con otros polifenoles. Las concentraciones plasmáticas de ácido gálico en su forma libre o glucuronizada y de ácido 4-O-metilgálico alcanzan los 4 μ M después de la ingestión de 50 mg de ácido gálico puro.

Vitamina C

La vitamina C o ácido ascórbico (AA) es una vitamina hidrosoluble presente en frutas y vegetales tales como los cítricos y las verduras frescas. Es un nutriente esencial para la biosíntesis del colágeno, la L-carnitina y para la conversión de la dopamina en norepinefrina. La deficiencia aguda de AA produce escorbuto, el cual se manifiesta por fragilidad de los vasos sanguíneos, daño del tejido conectivo, sensación de fatiga y, en última instancia, la muerte. En condiciones fisiológicas, el AA funciona como un potente agente reductor y además es capaz de neutralizar en forma eficaz los radicales libres potencialmente dañinos producidos por el metabolismo celular. La baja absorción intestinal del AA junto con su rápida oxidación y excreción urinaria dificulta la mantención de niveles plasmáticos óptimos de esta vitamina. Sin embargo, es necesario mantener en el organismo niveles relativamente altos de AA para que ejerza adecuadamente su actividad antioxidante. La biodisponibilidad del AA depende tanto de su absorción intestinal como de su excreción renal. Al ser un compuesto polar y con un peso molecular relativamente alto, el AA cruza la membrana celu-

lar por difusión simple con dificultad. La captación de AA por las células intestinales y su salida hacia la circulación están controlados por mecanismos específicos de transporte que incluyen un proceso de difusión facilitada (mediada por transportadores de la familia GLUT) y otro de transporte activo (mediante el co-transportador Na^+/AA , SVCT1). Este último transporta el AA a través de la membrana apical según el gradiente electroquímico de sodio generado por la Na^+/K^+ ATPasa ubicada en la membrana basolateral (Figura 13).

Algunos estudios han mostrado que la biodisponibilidad del AA difiere dependiendo de su origen, natural (proveniente de frutas y verduras) o sintético, sugiriendo que otros compuestos presentes en los vegetales podrían incrementar su biodisponibilidad. Las bajas concentraciones de AA en el lumen intestinal aumentan proporcionalmente su tasa de absorción y su reabsorción en el túbulo renal. En cambio, las altas concentraciones saturan SVCT1, disminuyendo la absorción relativa de AA por el intestino. Por ejemplo, la absorción intestinal de AA es de 70 a 90% después de la administración oral de 180 mg de esta vitamina, mientras que llega a tan sólo 15% después de la administración de 12 gramos. Debido a lo anterior, la concentración plasmática máxima alcanzable es de 200 mM; sin embargo la concentración fisiológica "normal" es entre 60 y 100 mM. La forma oxidada del AA, el ácido deshidroascórbico (DHA), se absorbe mejor ya que a pH fisiológico no se encuentra ionizado, es menos hidrófilo y por lo tanto, es capaz de atravesar más fácilmente la membrana celular del enterocito. Estudios en animales, sugieren que la absorción de DHA está mediada por GLUT2, el cual no tiene afinidad por el AA. El AA también puede ser absorbido indirectamente a nivel intestinal por un mecanismo que implica su oxidación extracelular a DHA, el transporte de DHA por GLUT2 y su reducción intracelular a AA (Figura 14). El AA es rápidamente y uniformemente distribuido en muchos tejidos; a pesar de que el organismo metaboliza una parte del AA hasta DHA y oxalato, la mayor parte de la dosis es excretada en la orina sin cambios.

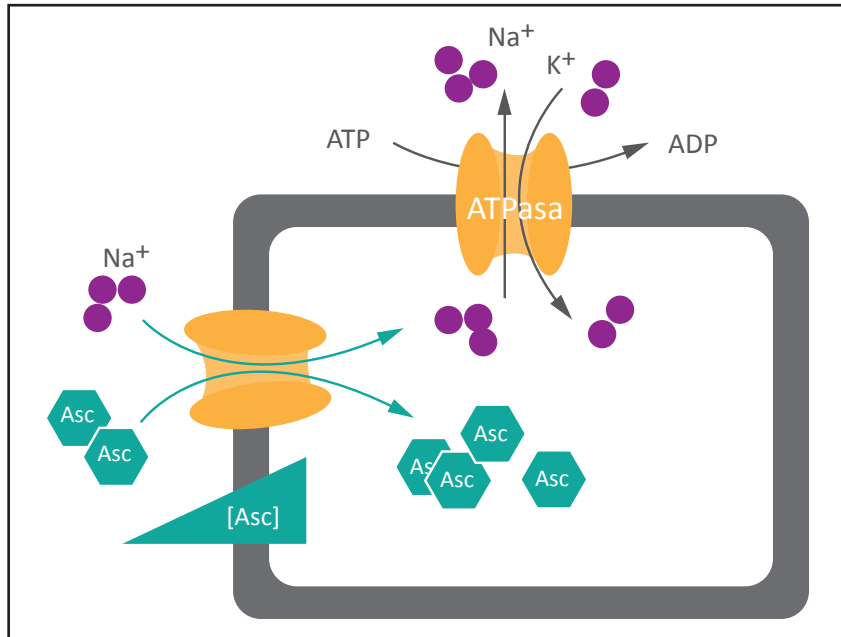


Figura 13. Mecanismo de absorción de la vitamina C (Asc) a través de transportadores de vitamina C sodio-dependiente.

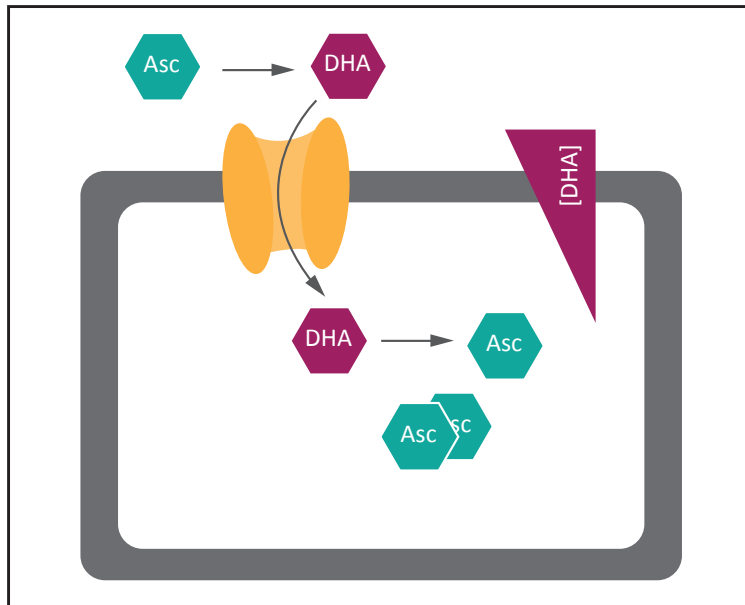


Figura 14. Mecanismo de absorción de la vitamina C (Asc) a través de GLUT. DHA: ácido dehidroascórbico. Adaptado de Li y Schellhorn, 2007.

Referencias

1. Bazzocco S, Mattila I, Guyot S, Renard CM, Aura AM. Factors affecting the conversion of apple polyphenols to phenolic acids and fruit matrix to short chain fatty acids by human faecal microbiota in vitro. *Eur J Nutr* 2008; 47: 442-52.
2. Carter B, Monsivais P, Drewnowski A. Absorption of folic acid and ascorbic acid from nutrient comparable beverages. *J Food Sci* 2010; 75: H289-93.
3. Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat Prod Rep* 2009; 26: 1001-43.
4. De la Iglesia R, Milagro FI, Campión J, Boqué N, Martínez JA. Healthy properties of proanthocyanidins. *Biofactors* 2010; 36: 159-68.
5. Déprez S, Brezillon C, Rabot S, Philippe C, Mila I, Lapiere C, Scalbert A. Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *J Nutr* 2000; 130: 2733-8.
6. Espín JC, García-Conesa MT, Tomás-Barberán FA. Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochem* 2007; 68: 2986-3008.
7. Gu L, Kelm MA, Hammerstone JF, Beecher G, Holden J, Haytowitz D, Gebhardt S, Prior RL. Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *J Nutr* 2004; 134: 613-7.
8. Ferruzzi MG. The influence of beverage composition on delivery of phenolic compounds from coffee and tea. *Physiol Behav* 2010; 100: 33-41.
9. Karakaya S. Bioavailability of phenolic compounds. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2004; 44: 453-64.
10. Kelly GS. Quercetin monograph. *Altern Med Rev* 2011; 16: 172-94.
11. Larkin T, Price WE, Astheimer L. The key importance of soy isoflavone bioavailability to understanding health benefits. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2008; 48: 538-52.
12. HE. New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *J Nutr* 2007; 137: 2171-84.
13. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 230S-242S.
14. Olthof MR, Hollman PCH, Katan MB. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J Nutr* 2001; 131: 66-71.
15. Ovaskainen ML, Törrönen R, Koponen JM, Sinkko H, Hellström J, Reinivuo H, Mattila P. Dietary intake and major food sources of polyphenols in Finnish adults. *J Nutr* 2008; 138: 562-6.
16. Pérez-Jiménez J, Neveu V, Vos F, Scalbert A. Systematic analysis of the content of 502 polyphenols in 452 foods and beverages: an application of the Phenol-Explorer database. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 4959-69.
17. Rekha CR, Vijayalakshmi G. Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones, mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast. *J Appl Microbiol* 2010; 109: 1198-208.
18. Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr* 2002; 22: 19-34.

19. Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005; 45: 287–306.
20. Scholz S, Williamson G. Interactions affecting the bioavailability of dietary polyphenols in vivo. *Int J Vitam Nutr Res* 2007; 77: 224-35.
21. Tarascou I, Souquet JM, Mazaauric JP, Carrillo S, Coq S, Canon F, Fulcrand H, Cheynier V. The hidden face of food phenolic composition. *Arch Biochem Biophys* 2010; 501: 16-22
22. Williamson G, Clifford MN. Colonic metabolites of berry polyphenols: the missing link to biological activity? *Br J Nutr* 2010; 104: Suppl 3, S48-66.

Motilidad colónica, defecación y sus alteraciones

Dr. Carlos Defilippi

La motilidad del tubo digestivo cumple importantes funciones básicas, entre ellas el avance del contenido luminal a lo largo del mismo, una adecuada mezcla del contenido con las secreciones exocrinas y facilita el contacto de los nutrientes, agua y electrolitos con la superficie absorptiva. En algunos segmentos, como el esófago, la velocidad de progresión del contenido es extremadamente rápida (5 segundos), mientras que en el colon se ha calculado mediante diferentes técnicas que el tránsito dura entre 36 y 72 horas. Desde el punto de vista morfológico el tubo digestivo, salvo unos pocos centímetros del esófago proximal, está constituido por musculatura lisa, con una capa externa de fibras longitudinales y una capa interna circular. En la mayor parte del tubo digestivo existe un esquema básico que genera y controla la actividad motora y es dependiente de dos redes celulares que se extienden a lo largo del mismo: las células de Cajal y el sistema nervioso entérico (Figura 1).

El potencial de membrana de reposo de las células musculares del tubo digestivo es electronegativo, con valores que oscilan entre -45 y -75 mV dependiendo del segmento del tubo digestivo y del nivel de la capa circular. En general las fibras se contraen a aproximadamente -40 mV (umbral mecánico). El valor del potencial de membrana en reposo es un factor importante tanto en la génesis como en la intensidad de la contracción. Un factor determinante de la magnitud del potencial de membrana en reposo en los miocitos del tubo digestivo es el monóxido de carbono (CO), originado en la hemoxigenasa-2 de las células de Cajal (1). Este aspecto es muy interesante

ya que mientras más electronegativo es el potencial de membrana, más difícil es que una depolarización alcance el umbral mecánico y genere una contracción. Curiosamente son las mismas células de Cajal las que presentan en forma espontánea depolarizaciones rítmicas que son transmitidas a las células musculares, generando o facilitando la contracción. Estas depolarizaciones reciben varias denominaciones entre otras la de ondas lentas, ritmo eléctrico basal, etc., y tienen una frecuencia estable, diferente para cada segmento; en general, se propagan en sentido céfalo-caudal. Las ondas lentas llevan el potencial de reposo a niveles cercanos o por sobre el umbral mecánico en la mayor parte de los segmentos del tubo digestivo.

Las ondas lentas no generan contracciones; éstas últimas suelen asociarse con la aparición del “potencial de espiga”, un fenómeno eléctrico caracterizado por oscilaciones rápidas, las que aparecen en el de-

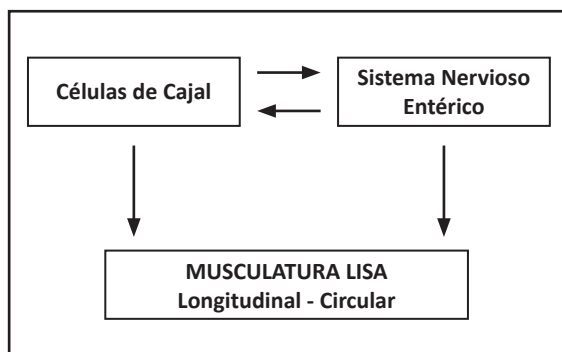


Figura 1. Mecanismos que generan y controlan la actividad motora del tubo digestivo.

nominado “plateau” de las ondas lentas y mediante el cual se alcanza el umbral mecánico y la fibra muscular se contrae (Figura2).

El segundo sistema que regula la actividad motora del tubo digestivo es otra gran red, en este caso neuronal: el sistema nervioso entérico (2); este último se relaciona con la generación de mecanismos motores complejos, que ocurren a nivel del tubo digestivo, entre otros el denominado reflejo peristáltico, activado por la distensión y caracterizado por una relajación distal y una contracción proximal de carácter propagado. Otra actividad relacionada con los plexos, que se observa en el antro gástrico y el intestino delgado, es el complejo motor migratorio, que aparece en períodos de ayuno y cuyas tres fases sucesivas se propagan en sentido céfalocaudal. A nivel colónico la actividad neuronal de los plexos está relacionada con complejos mecanismos que regulan el movimiento del contenido bajo circunstancias especiales.

Aspectos morfofuncionales del colon humano

El colon cumple varias funciones, entre ellas la absorción de agua y electrolitos, la acumulación del contenido intraluminal hasta que su eliminación sea socialmente conveniente y, por la acción de la microflora bacteriana, contribuye a metabolizar y a recuperar parte de la energía de los hidratos de carbono no absorbidos en el intestino delgado (3). En el desarrollo de estos fenómenos, la actividad motora juega un rol fundamental.

El colon del ser humano tiene una estructura anatómica intermedia entre la de otros mamíferos omnívoros como el gato y el perro, que tienen una capa longitudinal continua a lo largo de todo el colon y la de los herbívoros en los cuales la porción proximal del colon es sacular con la capa longitudinal parcialmente ausente. En el ser humano la capa muscular longitudinal se agrupa en las tres tenias con una delgada capa de fibras longitudinales entre ellas. En el colon distal y recto las tenias se fusionan formando

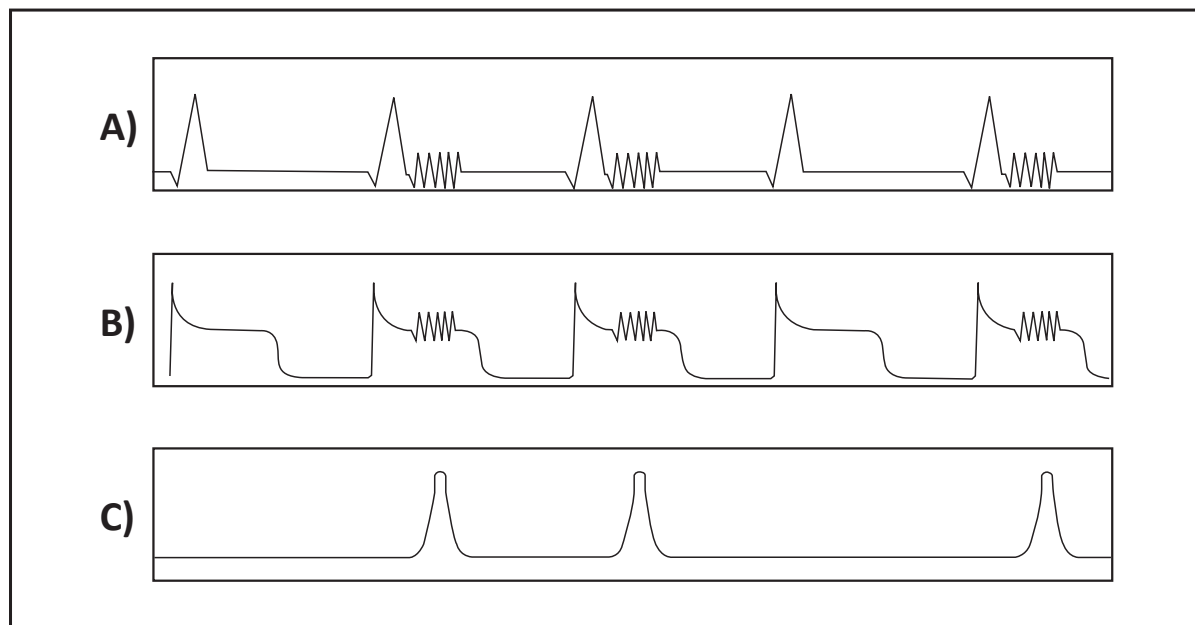


Figura 2. Relación entre la actividad eléctrica y motora a nivel del tubo digestivo: A) Registro eléctrico extracelular. B) Intracelular, C) Actividad motora. Se puede observar coincidencia entre el potencial de espiga y las contracciones.

una capa continua; de esta manera el colon humano se asemeja más al de los herbívoros que al de algunos animales carnívoros, que han sido utilizados como modelos experimentales (4).

La motilidad colónica

En el intestino delgado, segmento del tubo digestivo relativamente accesible al registro de la actividad motora y eléctrica, se observa una perfecta correlación entre los eventos eléctricos generados por las células de Cajal, (que delimitan la frecuencia máxima y la propagación de ésta) y la asociación casi invariable del potencial de espiga, estimulado principalmente por acetilcolina, y la contracción. Estos fenómenos han sido confirmados por estudios recientes *in vitro* que relacionan los transientes de Ca^{++} en las células de Cajal con la depolarización de las mismas y de las fibras musculares (5). Al comparar estos fenómenos con los que ocurren a nivel del colon, nos encontramos con un panorama mucho más complejo, derivado no sólo de la relativa dificultad para acceder a los niveles proximales de esta víscera, sino también del hecho que la actividad eléctrica y motora es mucho más compleja en sí misma; por ejemplo, no sólo existen ondas contráctiles propagadas o estacionarias, sino que con frecuencia se observan ondas retrógradas, mientras que otros fenómenos motores ocurren pocas veces en las 24 horas y se requieren registros muy prolongados para su detección.

En los últimos años han surgido nuevas tecnologías que han permitido la fabricación de catéteres multilumen de pequeño diámetro o transductores especiales de estado sólido, los que son introducidos al colon por vía naso-colónica y son impulsados por la propia actividad motora, o por vía rectal con un colonoscopio (6-10). Además, se ha asociado la manometría con la cintigrafía, lo que ha permitido analizar parcialmente el efecto de los diferentes tipos de actividad motora sobre el contenido (actividad propulsiva, retrógrada, estacionaria) (11, 12). En estudios recientes se han utilizado cápsulas telemétricas (13, 14).

Estas técnicas han permitido realizar estudios de manometría de 24 horas en adultos e inclusive en niños (15). Estos estudios en general han arrojado resultados reproducibles y consistentes al comparar las diferentes metodologías y series, por lo que constituyen los pilares del conocimiento actual. Los diferentes estudios realizados coinciden en demostrar que la actividad motora predominante está constituida por un patrón de contracciones extremadamente variable y cambiante.

No existe una clasificación aceptada universalmente de esta actividad motora. Existe cierto consenso en distinguir tres tipos básicos de actividad motora en el colon: a) las contracciones fásicas, b) las contracciones de gran amplitud o "gigantes" y propagadas, conocidas en la literatura como HAPCs (high amplitude propagated contractions), c) las contracciones tónicas (Figura 3).

Las contracciones fásicas, caracterizadas por un aumento de la presión y su rápido retorno a la presión basal, constituyen la actividad motora registrada más frecuentemente en el colon, las que presentan

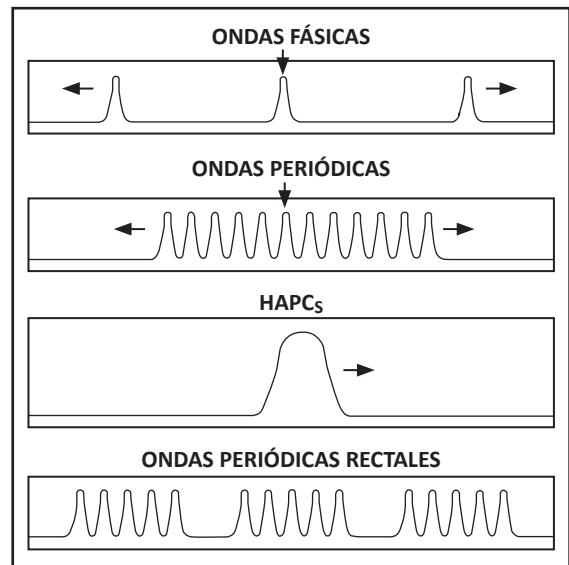


Figura 3. Representación esquemática de los principales tipos de contracciones colónicas y su organización temporoespacial. La dirección de la flecha indica el carácter estacionario y propagación anterógrada o retrógrada.

características individuales variables en cuanto a su amplitud, duración y en lo que concierne a su organización témporo-espacial (propagadas, no propagadas, retrógradas) y por presentarse ya sea en forma aislada o en grupos denominados contracciones “periódicas”. Las ondas fásicas en sus diferentes tipos: aisladas (de aparición local en un segmento), propagadas, simultáneas (en varios segmentos) y retrógradas, presentan una frecuencia global de 5 ciclos por minuto (CPM) en colon ascendente y transversal y de 4 CPM en colon descendente. Las ondas periódicas caracterizadas por aparecer agrupadas, son registradas con una frecuencia aproximada de 3 CPM y una duración del período de más de 3 min y en su mayoría son de carácter estacionario.

A nivel del recto se ha descrito una actividad característica de esta zona, consistente en ondas periódicas con una frecuencia de aproximadamente 3 CPM, mayoritariamente estable y que, inversamente con lo que ocurre con el resto de la actividad motora del colon, son más frecuentes durante la noche (8).

Globalmente, salvo la excepción antes mencionada, la actividad motora colónica disminuye durante el sueño y aumenta con el ejercicio y las comidas. Se observa un mayor número de ondas propagadas a nivel del ciego y su frecuencia disminuye en forma progresiva e importante hacia el colon descendente. Sin embargo, estudios simultáneos de cintigrafía y manometría han demostrado que sólo un tercio de las contracciones propagadas son propulsivas, o sea, generan un avance del contenido y, por otro lado, que no existe una relación entre la amplitud de las ondas y su carácter propulsivo. Este fenómeno puede estar relacionado con el hecho que las contracciones propagadas a veces no son oclusivas, perdiendo así su eficacia, al mismo tiempo que el contenido aumenta progresivamente en consistencia y viscosidad haciendo más difícil su avance (11). Las contracciones fásicas retrógradas son relativamente poco frecuentes.

Además de las contracciones fásicas descritas anteriormente, a nivel del colon se registran las denominadas HAPCs; éstas se caracterizan por tener gran amplitud, en promedio 180 mm de Hg, y por su

característica de propagarse a lo largo del colon. En un período de 24 horas se registran entre 2 y 20 de estos eventos, con un promedio de 6 a 10. Estas contracciones son precedidas por una inhibición de las otras contracciones, por una disminución del tono y se propagan en forma rápida desde segmentos proximales hacia los segmentos distales movilizándolo el contenido del lumen colónico; solo un 20% de ellas se asocian con la defecación. El otro fenómeno motor descrito a nivel del colon corresponde a las denominadas contracciones tónicas, que aumentan con la ingesta de comida y guardan una relación directa con la carga calórica. Juegan un papel importante, ya que disminuyen el diámetro del lumen intestinal haciendo más efectiva la acción propulsiva y la mezcla de las contracciones fásicas. En la tabla 1 se esquematizan los diferentes tipos de contracciones colónicas.

Bases electrofisiológicas de la motilidad colónica

Hasta ahora no se dispone de sistemas que permitan registrar, en forma simultánea y con múltiples canales, la actividad motora antes descrita así como los fenómenos eléctricos involucrados en la generación de las contracciones.

Los estudios de registros eléctricos datan de los años 80 y algunos fueron realizados con electrodos suturados a la serosa colónica de pacientes sometidos a colecistectomía y que debieron ser retirados en forma precoz, por lo que en general fueron relativamente cortos (16,17). En ellos se demostró claramente la presencia de ondas lentas; un análisis mediante la transformación de Fourier demostró la presencia de dos frecuencias dominantes: una baja con un rango entre 2 y 9 CPM y otra alta, entre 9 y 13 CPM. En el colon transversal se observó el predominio de la frecuencia alta, de carácter propagado, mientras que en el colon ascendente y descendente, predominó la frecuencia baja formada por ondas lentas, no propagadas. Las ondas lentas estaban acompañadas de espigas; sin embargo, al

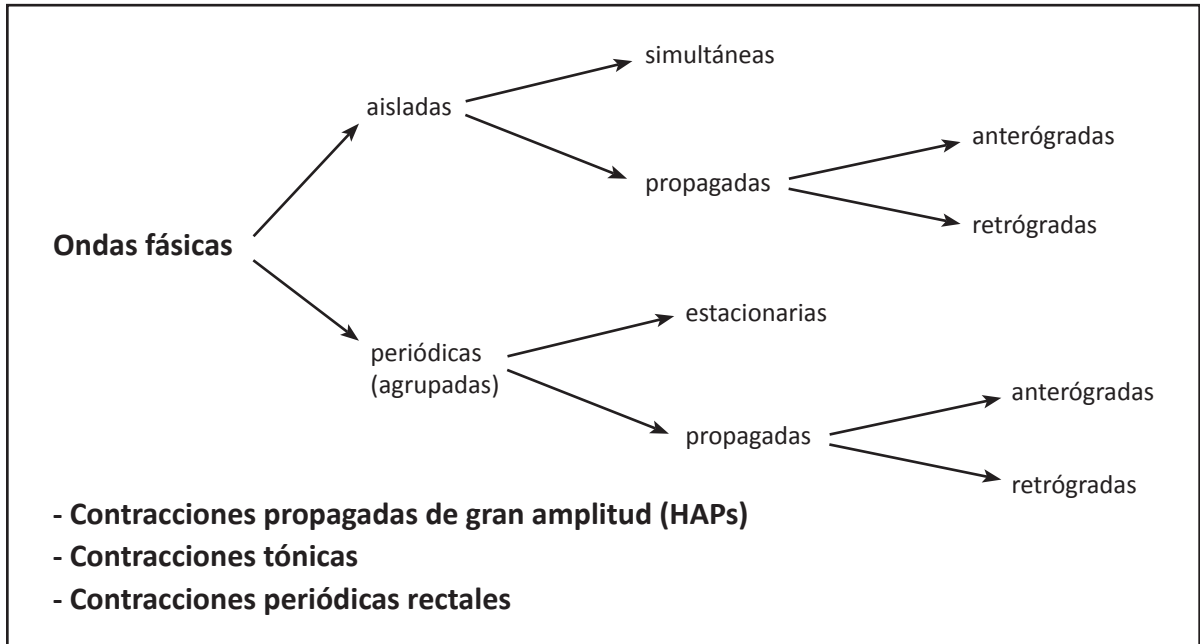


Tabla 1. Clasificación de las concentraciones colónicas.

no disponer de registros eléctricos y manométricos simultáneos, no está claro si las contracciones son generadas sólo por el potencial de espiga, como en el intestino delgado, o por las ondas lentas, como en el antro gástrico. Se observaron además períodos más prolongados de actividad de tipo espiga que aparecen superpuestas sobre varios ciclos de ondas lentas. Un tercer fenómeno fue la aparición de amplias oscilaciones del potencial de membrana con una frecuencia de 20 a 25 ciclos, de duración muy variable, de entre 10 seg y varios minutos de duración, no relacionadas con las ondas lentas.

Se han obtenido resultados similares con electrodos intraluminales fijados a la mucosa (18, 19).

Otras técnicas utilizadas son los registros *in vitro* en tejidos obtenidos durante intervenciones quirúrgicas. Un estudio *in vitro* con registros intracelulares en musculatura circular de colon humano (20), demostró la presencia de ondas lentas con una frecuencia similar a la observada *in vivo*, que se originaban a nivel del borde mucoso y se acompañaban de

un potencial en espiga. Sin embargo, su correlación con los fenómenos motores es de difícil interpretación ya que por un lado el estiramiento de las fibras musculares en la preparación genera una actividad motora espontánea no observada *in vivo*, mientras que para su adecuado registro eléctrico es necesario paralizar farmacológicamente la fibra muscular. No hemos incluido aquí estudios en animales de experimentación, si bien existen evidencias de ciertas similitudes.

En resumen, al igual que en el estómago y el intestino delgado, las ondas fásicas se asocian con las ondas lentas generadas por las células de Cajal y con el potencial en espiga que aparece en el plateau de las mismas bajo el efecto de estímulos colinérgicos. Las denominadas HAPCs se asocian a intensas oscilaciones del potencial de membrana; evidencias experimentales sugieren que estas oscilaciones son independientes de las células de Cajal y que son generadas por la activación de neuronas de los plexos intramurales y la liberación mantenida de acetilco-

lina con entrada de Ca^{++} a las células musculares. La correlación entre la actividad eléctrica y las contracciones tónicas es incierta y estaría relacionada con un potencial en espiga que se extiende a lo largo de varios ciclos de ondas lentas, pero que no se relaciona directamente con éstas. Sin embargo, esta interpretación es muy especulativa.

Fisiología de la defecación

El tubo digestivo termina en una serie de estructuras que comprenden el recto, el ano y los músculos del piso pelviano que, en conjunto, permiten regular en forma adecuada la defecación y la expulsión de gases, manteniendo la continencia frente a las más variadas condiciones. Los principales aspectos relacionados con la anatomía de las estructuras relacionadas con la defecación y los mecanismos involucrados son analizados *in extenso* en artículos recientes (21-23). La musculatura del piso pelviano, denominada también músculo elevador del ano o diafragma pélvico, está constituida por fibras musculares estriadas que exhiben características fisiológicas e histológicas similares a las de la musculatura somática del ser humano, propia de la posición bípeda, diferente de la de los cuadrúpedos, ya que en la posición erecta el contenido del recto y de la vejiga ejerce presión directamente sobre el canal anal. Dos músculos principales, el pubocoxígeo y el ileocoxígeo, se encuentran a este nivel. Las fibras del pubocoxígeo de ambos lados se fusionan para dar origen al puborectalis, formando un asa alrededor del recto. Otros autores estiman que el puborectalis tendría un origen y estructura distintos del de los otros músculos del piso pelviano, además de una inervación independiente del esfínter anal externo. La contracción tónica de este músculo tracciona el recto hacia adelante generando un ángulo de aproximadamente de 90° , el cual varía a 120° cuando el músculo se relaja durante la defecación constituyendo un importante mecanismo que contribuye a la continencia (Figura 4).

El piso pelviano presenta brechas en su línea media por los que pasan la vejiga, el útero y el recto,

este último se ha dividido en dos partes, alta y baja, separados por un pliegue horizontal; la parte superior generalmente contiene deposiciones y puede ser distendida hacia delante proyectándose hacia la cavidad peritoneal, mientras que la parte inferior, rodeada de tejido conectivo denso extraperitoneal, está generalmente vacía salvo durante la defecación. El canal anal está rodeado por un sistema doble de esfínteres: un esfínter anal interno (EAI) constituido por musculatura lisa que es una extensión de la musculatura circular del recto y es similar a los otros esfínteres del organismo, y un esfínter anal externo (EAE), formado por fibras musculares estriadas. Al contraerse estas estructuras transforman al ano en una hendidura anteroposterior y producen el cierre del canal anal. Se ha estimado que la contribución de estas estructuras al tono basal del esfínter, estaría dado en un 10% al EAI, 35% por EAE y 15% por los plexos hemorroidales (24). Bajo condiciones en que la continencia se ve amagada, por ejemplo durante la tos o el esfuerzo físico, el EAE se contrae aumentando el tono esfinteriano. Este fenómeno puede ser



Figura 4. Defecografía que muestra el ángulo determinado por la contracción del puborectalis. Gentileza del Dr. Claudio Cortés. Hospital Clínico Universidad de Chile - Clínica Alemana.

voluntario o inducido por el aumento de la presión intrabdominal. Se han descrito variaciones circadianas de la presión del esfínter anal (25).

Desde un punto de vista sensorial se distinguen dos áreas: en primer lugar el recto, donde mecano-receptores detectan básicamente la distensión causada fisiológicamente por el paso del contenido impulsado por las HAPCs, descritas anteriormente, desde el colon descendente y el sigmoide. Esta información es conducida a través de la médula espinal y transmitida a la corteza cerebral donde es percibida como urgencia para defecar. En cambio en la otra área, a nivel del canal anal, las terminaciones nerviosas sensoriales, que incluyen receptores de contacto, dolor y temperatura con gran sensibilidad, transmiten múltiples modalidades de información hacia la médula y el cerebro y permiten discriminar la presencia de líquido, gas o sólidos en dicho canal. Mecano-receptores localizados en los músculos del piso pelviano detectan los cambios en la orientación del ano-recto que generan estímulos que son transmitidos al sistema nervioso central, haciendo consciente la llegada de las deposiciones al recto.

El paso del contenido colónico al recto y su consecuente distensión, estimulan a los receptores sensibles a este estímulo; la información es procesada por el sistema nervioso entérico y la médula espinal, lo cual genera un reflejo que incluye la excitación de motoneuronas inhibitorias que relajan el EAI, mientras que a nivel medular se generan otros impulsos que contraen el EAE. La relajación del esfínter anal interno permite el contacto del contenido rectal con los receptores sensibles del canal anal descritos anteriormente. Estas señales alcanzan la corteza cerebral, lo que permite percibir las características del contenido rectal, (sólido, líquido o gaseoso) y activa, en caso necesario, los mecanismos de continencia tales como la contractura voluntaria del esfínter anal externo y del puborectalis.

La inervación de estas estructuras se origina en la médula sacra a partir de S2 (núcleo de Onuf), desde donde se proyectan axones al nervio pudiendo, algunas de cuyas ramas inervan el esfínter anal externo. Ramas de las raíces nerviosas sacras S3 y S4

inervan el puborectalis. El tono del EAE se mantiene por descargas de estas motoneuronas en forma continua tanto durante el día como durante la noche. Impulsos provenientes de centros superiores pueden modificar los mecanismo reflejos generados a nivel de la médula sacra. La distensión del recto genera sensación de urgencia para defecar o expulsar gases y activa el reflejo recto-anal, se relaja el EAI y se contraen el EAE y el puborectalis con lo cual se evita el escape del contenido. En esta etapa la decisión de defecar es voluntaria y de esta forma los impulsos corticales eliminan los estímulos excitatorios al EAE y al puborectalis, se genera una contracción de los músculos abdominales y del diafragma, se amplía el ángulo anorrectal, desciende el piso pelviano y se abren el canal anal y el ano. A este programa se suma el acortamiento de la musculatura longitudinal del sigmoide y el recto seguida de intensas contracciones de las fibras circulares. Si, en cambio, la decisión es de no defecar, se produce la relajación de la musculatura circular del recto con lo cual el estímulo sensorial causado por la distensión disminuye, aumenta la capacidad para acumular un mayor volumen de heces y se restablecen los otros mecanismos de contención.

Tránsito colónico

El resultado final de la actividad motora colónica y de los mecanismos descritos a nivel de la región anorrectal se traduce en lo que se denomina el tránsito colónico. Ha existido gran interés en cuantificar este parámetro tanto desde un punto de vista fisiológico como en algunas condiciones patológicas, en las cuales el tránsito se encuentra prolongado.

La técnica más simple y ampliamente utilizada es la de los marcadores radiopacos; inicialmente se utilizaron anillos obtenidos al seccionar una sonda radiopaca y los pacientes eran sometidos a radiografías seriadas del abdomen durante varios días, hasta su expulsión total, lo que determina el tiempo de tránsito (26). En la actualidad se usan 20 o 24 marcadores de tipo comercial estandarizados y con el fin de disminuir la exposición a los rayos X, se toma

una sola placa 5 días después de ingeridos los marcadores. Esta prueba entrega información valiosa: se considera normal la retención de hasta un 20% de los marcadores al final de dicho período. Si la retención es mayor, la radiografía permite localizar la distribución de los marcadores; si esta ocurre en forma uniforme a lo largo de todo el colon o en el colon derecho y transversal, se considera que el tránsito colónico se encuentra prolongado (Figura 5). En cambio, cuando los marcadores se encuentran en el colon izquierdo o el rectosigmoide, se sospecha un trastorno de los mecanismos analizados anteriormente a nivel del tracto de salida.

Utilizando marcadores radiopacos es posible hacer una estimación de la duración del tránsito colónico en los diversos segmentos del colon, de proximal a distal, minimizando la exposición a los rayos X. La técnica consiste en administrar 20 marcadores durante 3 días consecutivos, obteniendo radiografías del abdomen al cuarto, séptimo y décimo día en caso de que persistan marcadores en las placas radiográficas.



Figura 5. Marcadores radiopacos distribuidos a lo largo del tracto colónico sugerentes de constipación por tránsito lento. Gentileza del Dr. Claudio Cortés. Hospital Clínico Universidad de Chile - Clínica Alemana.

Utilizando como puntos de referencia marcadores óseos, se separan tres zonas: el colon ascendente y la mitad derecha del transversal, la mitad izquierda del colon transversal y el descendente y la tercera zona, correspondiente al recto y sigmoide. La suma de los marcadores en las diferentes zonas a lo largo del período de observación, multiplicado por una constante que tiene un valor de 1,2 permite calcular el tiempo de tránsito en horas para cada segmento y la suma de dichos tiempos arroja como resultado el tiempo total de tránsito (27-28). Con esta técnica, los valores obtenidos en sujetos normales han sido relativamente variables y se sitúan alrededor de 70 hrs. Las variaciones dependerían en parte de la selección de los voluntarios normales, aunque otros autores han cuestionado la simplicidad del modelo matemático (29). La obtención de los valores numéricos del tránsito colónico y una estimación en relación con los distintos segmentos del colon sería de interés, ya que algunas observaciones han permitido establecer, por ejemplo, que éste puede estar disminuido en un segmento y acelerado en otro, con resultados globales normales (30).

Para el estudio del tránsito colónico se ha utilizado también la cintigrafía; sin embargo, esta técnica ha alcanzado un menor nivel de desarrollo.

Constipación

Definición

La constipación es un síntoma frecuente que se origina como manifestación de muy diferentes trastornos, ya sean de carácter sistémico o del tubo digestivo.

En los estudios de la epidemiología, fisiopatología y manejo de estos pacientes se observan con frecuencia resultados contradictorios, lo que se debe en gran medida a la definición del término constipación (31, 32). Hasta hace pocos años se definía como constipación la existencia de menos de tres evacuaciones semanales. Este criterio se basaba en parte en una encuesta realizada en granjeros del Reino Unido en quienes se observó que un 99% de esta población presentaba entre tres evacuaciones por día y tres por semana (33). Sin embargo, cuando

se encuesta a pacientes acerca de su percepción de la constipación, esta difiere en forma importante de los criterios antes mencionados: los enfermos conciben la constipación como una manifestación desagradable, consistente en un aumento del esfuerzo defecatorio, la presencia de deposiciones de consistencia aumentada o de trastornos de la evacuación que incluyen la sensación de evacuación incompleta, sensación de obstrucción o bloqueo anorectal y la necesidad de maniobras para realizar la defecación. Estas manifestaciones han sido incorporadas en los criterios diagnósticos de la constipación funcional de Roma III, donde se ha fijado además como requisito su ocurrencia en 25% o más de los episodios de evacuación.

Tan determinante es el criterio utilizado para definir la constipación que en un metaanálisis, Higgins y colaboradores (34) observaron que las variaciones de la prevalencia de constipación en diferentes series oscilaban entre 1,9 y 27,1%, dependiendo de la definición utilizada y en parte del método empleado para encuestar a los pacientes. Estos mismos autores demostraron una mayor prevalencia (el doble) en el sexo femenino y, en algunos estudios, con la edad.

Etiología

La constipación es un síntoma presente en numerosas condiciones patológicas y en algunas circunstancias es la manifestación de una enfermedad grave que requiere ser diagnosticada precozmente; esta posibilidad debe ser considerada especialmente si el síntoma es de inicio reciente. En la actualidad no es raro observar cómo estas causas o condiciones agravantes de la constipación son escasamente consideradas en las revisiones del tema; esta situación puede llevar a realizar estudios funcionales innecesarios o a un diagnóstico tardío. En la tabla 2 se detallan las múltiples condiciones que pueden causar o estar asociadas con la presencia de constipación. Estudios epidemiológicos (34) han acentuado la asociación muy frecuente de constipación con la esclerosis múltiple (43%), lesiones de la médula espinal

(58%), la enfermedad de Parkinson y en los pacientes tratados con opioides para controlar el dolor de origen oncológico, cuya importancia se ve reflejada en numerosas publicaciones recientes, que revelan que en estos enfermos la constipación puede ser un síntoma no menor, que dificulta la terapia del dolor (35-37).

La mayor parte de los pacientes con constipación no presentan una patología asociada o antecedentes del uso de fármacos que puedan inducir este síntoma y caen en la categoría de la denominada constipación funcional. Si consideramos la compleja función motora colónica analizada anteriormente, las dificultades para su medición y la variabilidad de los resultados de los estudios de tránsito colonico, no es raro encontrar un grado importante de confusión en la literatura generada por una sobresimplificación de los intentos de clasificar estos trastornos. Así, en algunas revisiones (31) se definen cuatro grupos de constipación funcional: por tránsito lento, por alteración de la defecación (defecación dissinérgica), coexistencia de ambas alteraciones, o ausencia de las dos alteraciones (tránsito colónico y evacuación normal); se considera que este último grupo de pacientes correspondería a intestino irritable. Este criterio no es compartido por otros (32) y además algunos estudios han demostrado la existencia de tránsito lento en el síndrome del intestino irritable con constipación (38). El origen de esta controversia es un estudio (39) cuyo objetivo era seleccionar en un grupo de pacientes con constipación funcional a aquellos que fueran candidatos a la cirugía resectiva del colon. Los autores estudiaron el tránsito intestinal con marcadores radiopacos y evaluaciones de la función pelviana en 1.009 pacientes con constipación grave; en 59% de ellos la función defecatoria y el tránsito se consideraron normales: a éstos se les denominó en forma arbitraria intestino irritable. El elevado porcentaje de tránsito "normal" puede explicarse porque se usó como criterio de tránsito alterado 70 horas, el doble del valor de sus controles normales. Sin embargo, en otro estudio en pacientes con tránsito intestinal menor de 70 horas, se encontraron diferencias importantes entre los suje-

Extraintestinal	
Neurológicas y psiquiátricas	→ Lesiones de la médula espinal, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, distrofias neuromusculares, depresión.
Endocrinas	→ Diabetes, hiperparatiroidismo, hipotiroidismo.
Farmacológicas	→ Opioides, antidepresivos tricíclicos, Ca ⁺⁺ , hidróxido de aluminio, sucralfato, bloqueadores de los canales de Ca ⁺⁺ , fármacos antiparkinsonianos, fierro.
Otras	→ Insuficiencia renal crónica, amiloidosis, disminución de la ingesta de calorías, fibras y líquidos, inmovilidad.
Intestinal	
Orgánica	
Colon	→ Neoplasias, enfermedad diverticular estenosante, agangliosis, esclerodermia.
Recto-anal	→ Neoplasias, fisura anal, estenosis anal (post cirugía, Rx, enf. de Crohn), prolapso rectal, enterocele, rectocele.
Funcional	
Colon	→ Constipación por tránsito lento, síndrome de intestino irritable con constipación, constipación funcional.
Recto-anal	→ Defecación dissinérgica.

Tabla 2. Etiología de la constipación según su origen.

tos normales y los pacientes con intestino irritable observándose subgrupos de pacientes con tránsito lento sólo en algunos segmentos (30).

Fisiopatología

Constipación por tránsito lento

Tal como se mencionó al inicio de este capítulo, gracias al progreso tecnológico se han efectuado en forma sistemática registros manométricos de 24 horas y de esta forma se ha podido comparar la motilidad colónica normal con la de pacientes constipados. Dos estudios efectuados con técnicas de intubación diferentes han mostrado resultados sorprendentemente similares (40, 41), consistentes en la disminución de la frecuencia y amplitud de las contracciones

fásicas, disminución de las contracciones periódicas (agrupaciones de contracciones fásicas), disminución de su frecuencia y amplitud y en un 53% desaparición completa de las HAPCs y alteración de la respuesta motora al ejercicio y a la comida. Esto último sugiere un compromiso del mecanismo neurohumoral que opera en condiciones fisiológicas. El aumento de la actividad rectal periódica que se considera un freno para el avance del contenido intestinal durante el período nocturno (42) (Tabla 3), la ausencia de las HAPCs y de la respuesta a estímulos fisiológicos como el ejercicio y la alimentación, orienta hacia un trastorno de origen neuropático. En cambio, la atenuación de los fenómenos motores orienta hacia un trastorno miopático. Otros autores, junto con confirmar estos hallazgos en pacientes

con constipación por tránsito lento, han encontrado alteraciones similares en pacientes con el síndrome del intestino irritable con constipación (43).

En el estudio de la constipación por tránsito lento se ha utilizado la respuesta al bisacodil, un laxante instilado localmente en el colon, caracterizado en los constipados por la aparición de un menor número de HAPCs y una mayor latencia entre el estímulo y la aparición de las contracciones en comparación con los sujetos normales (44). Un efecto similar se ha observado con la neostigmina (Tabla 3). Se ha descrito también un menor tono (estudiado con barostato) en colon izquierdo, pero esta alteración no es exclusiva de la constipación por tránsito lento (45). En relación con el posible origen de los trastornos motores descritos, varios estudios (46-49) han demostrado una disminución de las células de Cajal en piezas operatorias de pacientes sometidos a colectomía por constipación con tránsito lento, casi siempre asociada con alteraciones de las estructuras nerviosas de la pared. Sin embargo, otros autores no han podido confirmar esta observación (50); la causa de estas discrepancias podría estar relacionada con la isquemia propia del procedimiento quirúrgico y con diferencias en las técnicas histológicas (51). Es importante recordar que las células de Cajal son estructuras bastante dinámicas; estudios

experimentales han demostrado que disminuyen en casos de obstrucción intestinal, pero que se observa su recuperación después que la obstrucción es removida (52).

Además de los trastornos motores, se han explorado otros posibles mecanismos; sin embargo, no hay evidencias concluyentes en relación con una posible mayor reabsorción de agua y desbalances hormonales (32). En cuanto al notable predominio de la constipación por tránsito lento en el sexo femenino, en estudios *in vitro* se ha observado en tejidos obtenidos por colectomía en mujeres con constipación por tránsito lento la presencia de alteraciones de la regulación de una proteína G dependiente de la progesterona, relacionada con la contracción muscular. Probablemente este fenómeno es debido a la sobreexpresión de receptores para esta hormona (53).

En algunos pacientes la constipación por tránsito lento forma parte de un compromiso más difuso del tubo digestivo (54), ya que en ellos se han observado alteraciones de la motilidad del intestino delgado de carácter miopático o neuropático (55, 56). Algunos de los casos más graves de compromiso difuso del tubo digestivo, pueden corresponder al síndrome de pseudobstrucción intestinal en sus diferentes formas.

Constipación por alteración de los mecanismos defecatorios

Descartadas las causas de tipo orgánico que pueden alterar la defecación (Tabla 2), existen pacientes en quienes este mecanismo presenta alteraciones de carácter funcional. Se han empleado diferentes terminologías para denominar este trastorno, entre otras la de "anismus", dissinergia del piso pelviano, defecación obstructiva, síndrome espástico del piso pelviano, etc. Algunos de estos términos no reflejan la realidad, ya que en la mayoría de los pacientes con el trastorno defecatorio, otras funciones de la musculatura del piso pelviano (urinaria y sexual) no se encuentran alteradas. Existe un número pequeño de estudios en relación con la etiopatogenia de esta condición. Hay evidencias de que en tres cuartos de los pacientes esta es una condición adquirida duran-

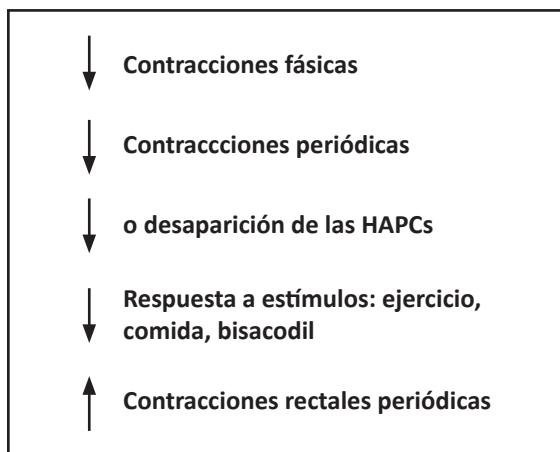


Tabla 3. Alteraciones de la motilidad colónica en la constipación por tránsito lento.

te la edad adulta y se asocia en 17% con episodios como el embarazo, traumatismos y abuso sexual (57).

Se han observado dos tipos básicos de alteraciones de los mecanismos defecatorios: una inadecuada relajación del esfínter anal y una alteración de la propulsión asociada con la contracción rectal. Tomando como base los estudios de manometría rectal se han identificado cuatro grupos de trastornos básicos: tipo I: adecuada fuerza propulsiva y aumento paradójal de la presión del esfínter anal; tipo II: incapacidad de generar una fuerza propulsiva asociada con una contracción anal paradójal; tipo III: adecuada fuerza propulsiva asociada con una relajación esfinteriana ausente o incompleta (< de 20%) y finalmente, tipo IV: incapacidad de generar una fuerza propulsiva adecuada junto con una relajación incompleta o ausente del esfínter anal. Adicionalmente, 50 a 60% de los pacientes presentan además alteraciones de la sensibilidad rectal. En algunos pacientes se puede observar una combinación de ambos tipos de trastornos: una constipación por tránsito lento y defecación dissinérgica; en un estudio sistemático reciente en 168 pacientes esta condición se observó en un 17,8% de los casos (58).

El laboratorio en el estudio de la constipación

Motilidad colónica

A lo largo de este capítulo hemos analizado los resultados de los diferentes estudios de la motilidad colónica y de la función ano-rectal que se han realizado en laboratorios de investigación. Se analizarán a continuación los métodos de estudio funcionales del colon y el ano-recto que están disponibles para el clínico, las indicaciones para su empleo y los resultados esperados. En los últimos años, se han agregado nuevas técnicas como las cápsulas telemétricas capaces de analizar diferentes funciones a lo largo del tubo digestivo o el uso del barostato en la evaluación motora del colon.

El método más simple y más difundido, que sólo requiere de radiografías de abdomen simple, es el estudio del tránsito colónico con marcadores radiopacos, que ha sido analizado anteriormente. Hay un acuerdo en general acerca de su utilidad ya que permite identificar al grupo de pacientes con constipación por tránsito lento. En cambio, existe una controversia en cuanto al uso de marcadores administrados durante 3 días y con el empleo de varias placas radiográficas con el fin de determinar el tiempo de tránsito colónico segmentario y total. Mientras algunos autores estiman que los resultados obtenidos no son confiables (29) otros hacen hincapié en que este exámen podría identificar alteraciones regionales del tránsito colónico que podrían explicar aspectos que de otra manera serían difíciles de interpretar (30). En nuestro medio el estudio de distribución de marcadores se realiza en varios centros.

Manometría rectal

Recientemente la Sociedad Americana de Neurogastroenterología y Motilidad ha publicado un consenso sobre motilidad gastrointestinal y colónica (59), donde en forma sintética se hace referencia a las técnicas vigentes, sus indicaciones y sus respectivas ventajas y desventajas. En relación con la motilidad colónica existen diferentes técnicas en uso en la actualidad que han sido analizadas en forma exhaustiva en algunas revisiones (10).

Básicamente existen tres métodos: los estudios de motilidad colónica de 24 horas, cuyos resultados han sido analizados extensamente al comienzo de este capítulo, (6-12), la manometría colónica mediante el barostato, que tiene como finalidad medir el tono rectoanal, en tanto que el tercer método, las cápsulas telemétricas, que son de introducción más reciente.

Hoy en día prácticamente no se realizan estudios de actividad eléctrica, ni *in vitro* ni *in vivo*, a pesar de la posible información valiosa que se pudiera obtener de estos estudios.

Manometría colónica con catéteres intraluminales

A diferencia de lo que ocurre en el estudio del esófago, no existe una técnica de manometría estandarizada para el colon. Se pueden utilizar catéteres perfundidos y transductores externos, cuya ventaja es su relativo bajo costo y la posibilidad de tener múltiples puntos de registro (hasta 21 con un catéter de 4 mm). Además, tiene la posibilidad de obtener información muy fisiológica, ya que las mediciones se realizan en un colon no preparado. Sin embargo, mantienen a los pacientes ligados al equipo de perfusión, motivo por el cual no pueden deambular. Se han usado también transductores de estado sólido y en este caso el registro se realiza mediante equipos digitales portátiles que permiten al sujeto desplazarse en forma normal; sin embargo, el número de sitios de registro es menor (máximo 8) y además esta técnica suele requerir la limpieza del lumen del colon con los métodos tradicionales para la colonoscopia. La introducción al colon de ambos tipos de sistemas de registro se puede realizar ya sea por vía anterógrada (nasofaríngea), lo que se logra en general en un período inferior a 36 horas, o por vía retrógrada mediante un colonoscopio, lo que requiere una preparación colónica previa que puede alterar la actividad motora normal. La mayor cantidad de información se obtiene con los estudios ambulatorios de 24 horas y con dos a tres comidas al día que proporcionen cada una 600 kcal y 40% de grasa por lo menos, las que generan el mayor estímulo sobre la motilidad colónica.

Se han utilizado además registros cortos (menores de 8 horas) cuyo objetivo es analizar la respuesta a determinados estímulos, entre ellos la comida, como una forma de explorar la integridad de mecanismos neurohumorales. Otro estímulo estudiado es la respuesta al bisacodil, ya que este fármaco es capaz de inducir la aparición de las HAPCs, lo que permite establecer la integridad de mecanismo neurológico. Se han usado también estímulos colinérgicos.

Manometría colónica mediante barostato

Esta técnica es empleada también en diferentes segmentos del tubo digestivo y utiliza en lugar de catéteres, bolsas plásticas de paredes muy finas que se adosan a la pared del colon, de tal manera que cualquier cambio en el diámetro del lumen se refleja en el volumen de la bolsa. El barostato consta de un equipo computarizado diseñado para mantener presiones constantes dentro de la bolsa, lo que se consigue inyectando o extrayendo aire desde su interior. Estas variaciones del volumen son proporcionales a los procesos de contracción-relajación del segmento estudiado; a este sistema se le agrega habitualmente el empleo de catéteres manométricos proximales y distales a la bolsa para registros de las presiones intraluminales. A nivel de la bolsa se obtienen datos acerca de la variación del volumen basal que es un reflejo del tono, mientras que los cambios fásicos del volumen representan las contracciones colónicas descritas anteriormente. De esta manera es posible investigar, por ejemplo, las respuestas a una comida, las que en condiciones fisiológicas se acompañan de un aumento del tono.

Estudio de la motilidad colónica mediante cápsulas telemétricas

El empleo de cápsulas telemétricas para el estudio de la motilidad intestinal no es reciente, ya que fueron desarrolladas hace más de una década para el estudio del intestino delgado. Investigadores chinos (13, 14) han desarrollado una cápsula cuyos resultados iniciales parecen ser prometedores ya que permiten detectar variaciones de la motilidad colónica durante el sueño y la vigilia y diferencias regionales en el colon. Al mismo tiempo permiten medir el tránsito intestinal. Resultados similares se han obtenido en los Estados Unidos (60).

La principal indicación de las técnicas analizadas anteriormente es el estudio de pacientes adultos con constipación con tránsito lento con el objetivo de detectar aquellos individuos con alteraciones neuropáticas, en quienes la colectomía tendría su mejor indicación.

En pacientes con constipación con tránsito lento, se han realizado estudios de manometría a nivel del intestino delgado con el objeto de seleccionar en forma más adecuada aquellos candidatos que se pudieran beneficiar en mejor forma con la colectomía (54-56). Existe por lo menos un estudio que demuestra que la colectomía produce mejores resultados en presencia de una manometría normal del intestino delgado (61).

Defecación dissinérgica

Cuando el estudio del tránsito colónico con marcadores radiopacos orienta hacia un trastorno defecatorio, su confirmación y la investigación del trastorno subyacente requieren de una serie de técnicas de laboratorio. Para el adecuado manejo e interpretación de dichas técnicas, es necesaria la formación de equipos multidisciplinarios de expertos que incluyan gastroenterólogos, cirujanos y radiólogos. Los resultados de estos estudios deben ser analizados en forma crítica y comparando los producidos en cada paciente por más de una prueba. Existen varias revisiones del tema, algunas recientes (31, 32, 57, 59, 62, 63, 64).

Manometría ano-rectal

La manometría ano-rectal permite descartar la enfermedad de Hirschprung, en la cual el reflejo recto-anal (relajación del esfínter anal interno al distender el recto) está ausente.

En el caso de la defecación dissinérgica la manometría ano-rectal permite establecer él o los trastornos subyacentes, lo cual se obtiene solicitando al paciente que durante el estudio manométrico realice una maniobra de intento de defecación. Durante ésta, la presión intrarrectal normalmente debería aumentar y el esfínter anal se debe relajar. Existen alteraciones aisladas o combinadas de estas dos respuestas. A estas alteraciones se puede asociar una disminución de la sensibilidad con aumento del umbral de percepción de la distensión del recto.

Prueba de expulsión de un balón intrarrectal

Consiste en introducir en el recto un balón con 50 mL de agua o un molde de un bolo fecal artificial fabricado con silicona y se mide a continuación el tiempo que el paciente requiere para expeler, ya sea el balón o el bolo. Normalmente esto ocurre en un plazo de 1 minuto; si el tiempo requerido es mayor de 3 minutos se debe sospechar la existencia de una defecación dissinérgica. Comparada con otros métodos más refinados, esta prueba ha demostrado una buena correlación (65).

Métodos radiológicos

Defecografía: este examen proporciona información útil acerca de la anatomía del extremo distal del tubo digestivo y permite observar cambios funcionales ano-rectales (66-67). El estudio consiste en introducir en el recto aproximadamente 150 mL de una suspensión especial de bario y solicitar al paciente que se siente en un receptáculo adyacente a un sistema de video-fluoroscopia. A continuación el paciente debe pujar y evacuar el bario, mientras que los cambios anatómicos son monitoreados por fluoroscopia y registrados. Con esta técnica se pueden observar alteraciones de la función de los músculos que intervienen en el proceso de la defecación, incapacidad para expeler el bario, ausencia de la onda contráctil que hace avanzar el bario hacia el ano y retención prolongada del material baritado. A veces esta prueba es difícilmente aceptada por los pacientes. En algunos casos se utiliza la defecografía por resonancia magnética, ya sea mediante un equipo convencional o un equipo abierto que permite al paciente permanecer en posición sentada.

La experiencia con estos estudios ha demostrado que para el diagnóstico de la defecación dissinérgica, es necesaria la presencia de una manometría recto-anal alterada asociada con algunas de las alteraciones fisiopatológicas antes descritas y se requiere además la presencia de por lo menos la alteración de uno de los siguientes exámenes: prueba de expulsión del balón más la retención de 20% de los marcadores radiopacos en el colon izquierdo o incapacidad para evacuar un 50% o más del bario en

la defecografía. Otras técnicas para el estudio de estos trastornos, cuya utilización ha sido más limitada y se encuentran en una etapa de evaluación, son la endosonografía y electromiografía.

La importancia que tienen estos exámenes para la confirmación de la presencia de un proceso de defecación dissinérgica, es que el manejo de este trastorno es efectuada mediante técnicas conservadoras: el biofeedback, que permiten corregir los trastornos antes descritos y cuya utilidad ha sido demostrada en diferentes estudios clínicos.

Referencias

1. Szurszewski J.H., Farrugia G. Carbon monoxide is an endogenous hyperpolarizing factor in the gastrointestinal tract. *Neurogastroenterol Motil* 16:81-5, 2004.
2. Furness J.B. The enteric nervous system: normal functions and enteric neuropathies. *Neurogastroenterol Motil* 20:32-8, 2008.
3. Bharucha A.E. Lower gastrointestinal functions. *Neurogastroenterol Motil* 20:103-13, 2008.
4. Daniel E.E. Symposium on colonic function. *Gut* 16:298-329, 1975.
5. Lee H-T., Henning G.W., Fleming N.W., Keef K.D., Spencer N.J., Ward S.M., Sanders K.M., Smith T.K. The mechanism and spread of pacemaker activity through myenteric interstitial cells of Cajal in human small intestine. *Gastroenterology* 132:1852-65, 2007.
6. Bampton P.A., Dinning P.G., Kennedy M.L., Lubowski D.Z. and Cook I.J. Prolonged multi-point recording of colonic manometry in the unprepared human colon: Providing insight into potentially relevant pressure wave parameters. *The American Journal of Gastroenterology* 96:1838-48, 2001.
7. Bampton P.A., Dinning P.G., Kennedy M.L., Lubowski D.Z. and Cook I.J. Spatial and temporal organization of pressure patterns throughout the unprepared colon during spontaneous defecation. *The American Journal of Gastroenterology* 95:1027-35, 2000.
8. Rao S.S.C., Sadeghi P., Beaty J., Kavlock R. and Ackerson K. Ambulatory 24-h colonic manometry in healthy humans 280:G629-G39, 2001.
9. Hagger R., Kumar D., Benson M., Grundy A. Periodic colonic motor activity identified by 24-h pancolonic ambulatory manometry in humans. *Neurogastroenterol Mot* 14:271-8, 2002.
10. Scott S.M. Manometric techniques for the evaluation of colonic motor activity: current status. *Neurogastroenterol Motil* 15:483-513, 2003.
11. Cook I.J., Furukawa Y., Panagopoulos V., Collins P.J., Dent J. Relationships between spatial patterns of colonic pressure and individual movements of content. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 278:G329-G41, 2000.
12. Dinning P.G., Szczesniak M.M., Cook I.J. Twenty-four hour spatiotemporal mapping of colonic propagating sequences provides pathophysiological insight into constipation. *Neurogastroenterol Motil* 20:1017-21, 2008.
13. Zhang W.Q., Yan G.Z., Yu L.Z., Yang X.Q. Non-invasive measurement of pan-colonic pressure over a whole digestive cycle: clinical applications of a capsule-style manometric system. *World J Gastroenterol* 12:7690-4, 2006.
14. Zhang W.Q., Yan G.Z., Ye D.D., Chen C.W. Simultaneous assessment of the intraluminal pressure and transit time of the colon using a telemetry technique. *Physiol Meas* 28:141-8, 2007.
15. King S.K., Catto-Smith A.G., Stanton M.P., Sutcliffe J.R., Simpson D., Cook I., Dinning P., Hutson

- J.M., Southwell B.R. 24-Hour colonic manometry in pediatric slow transit constipation shows significant reductions in antegrade propagation. *Am J Gastroenterol* 103:2083-91, 2008.
16. Sarna S.K., Bardakjian B.L., Waterfall W.E., Lind J.F. Human Colonic Electrical Control Activity (ECA). *Gastroenterology* 78:1526-36, 1980.
17. Sarna S.K., Waterfall W.E., Bardakjian B.L., Types of human colonic electrical activities recorded postoperatively. *Gastroenterology* 81: 61-70, 1981.
18. Sarna S., Latimer P., Campbell D., Waterfall W.E. Electrical and contractile activities of the human rectosigmoid. *Gut* 23:698-705, 1982.
19. Frexinos J., Bueno L., Fioramonti J. Diurnal changes in myoelectric spiking activity of the human colon. *Gastroenterology* 88:1104-10, 1985.
20. Rae M.G., Fleming N., McGregor D.B., Sanders K.M., Keef K.D. Control of motility patterns in the human colonic circular muscle layer by pacemaker activity. *J Physiol* 510: 309-20, 1998.
21. Wood J.D. Integrative functions of the enteric nervous system. En *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. Leonard R. Johnson editor. Amsterdam Elsevier 665-83, 2006.
22. Vodusek D.B. and Enck P. Neural control of pelvic floor muscles. En *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. Leonard R. Johnson editor. Amsterdam Elsevier 995-1008, 2006.
23. Bharucha A.E. Pelvic floor: anatomy and function. *Neurogastroenterol & Motil* 507-19, 2006.
24. Penninckx F., Lestar B., Kerremans R. The internal anal sphincter: mechanisms of control and its role in maintaining anal continence. *Baillieres Clin Gastroenterol*. 6:193-214, 1992.
25. Enck P., Eggers E., Koletzko S., Erckenbrecht J.F. Spontaneous variation of anal "resting" pressure in healthy humans. *Am J Physiol* 261:G823-6, 1991.
26. Hinton J.M., Lennard-Jones J.E., Young A.C. A new method of studying gut transit times using radio-opaque markers. *Gut* 10:842-47, 1969.
27. Chaussade S., Roche H., Khyari A., Couturier D. Guerre J. Measurement of colonic transit time: description and validation of a new method. *Gastroenterol Clin Biol* 10:385-89, 1986.
28. Metcalf A., Phillips S., Zinsmeister A., MacCarthy R., Beart R. Wolff B. Simplified Assessment of segmental colonic transit. *Gastroenterology* 92:40-47, 1987.
29. Ehrenpreis E.D., Jorge J.M.N., Schiano T.D., Zaitman D., Kane S.V., Why colonic marker studies don't measure transit time. *Gastroenterology* 112:A728, 1997.
30. Bouchoucha M., Devroede G., Dorval E., Faye A., Arhan P., Arsac M. Different segmental transit times in patients with irritable bowel syndrome and "normal" colonic transit time: is there a correlation with symptoms?. *Tech Coloproctol* 10:287-96, 2006.
31. Bharucha A.E. Constipation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 21:709-31, 2007.
32. Rao S. Constipation: Evaluation and treatment of colonic and anorectal motility disorders. *Gastroenterology Clinics*. 36:687-711, 2007.
33. Connell A.M., Hilton C., Irvine G. et al. Variation of bowel habit in two population samples. *Br Med J* 5470:1095-99, 1965.
34. Higgins P.D.R., Johanson J.F. Epidemiology of constipation in North America: A systematic review. *American Journal of Gastroenterology Am J Gastroenterol* 99:750-9, 2004.

35. Bell T.J., Panchal S.J., Miaskowski C., Bolge S.C., Milanova T., Williamson R. The prevalence, severity, and impact of opioid-induced bowel dysfunction: results of a US and European Patient Survey *Pain Med* 10:35-42, 2009.
36. Panchal S.J., Müller-Schwefe P., Wurzelmann J.I. Opioid-induced bowel dysfunction: prevalence, pathophysiology and burden. *Gastroenterology* 127:1181-7, 2007.
37. Tamayo A.C., Diaz-Zuluaga P.A. Management of opioid-induced bowel dysfunction in cancer patients. *Support Care Cancer* 12:613-8, 2004.
38. Stivland T., Camilleri M., Vassallo M. et al. Scintigraphic measurement of regional gut transit in idiopathic constipation. *Gastroenterology* 101:107-15, 1991.
39. Nyam D.C.N.K., Pemberton J.H., Ilstrup D.M., Rath D.M. Long-term results of surgery for chronic constipation. *Dis Colon Rectum* 40:273-79, 1997.
40. Ambulatory 24-hour colonic manometry in slow-transit constipation. *Am J Gastroenterol* 99:2405-16, 2004.
41. Colonic motor activity in slow-transit idiopathic constipation as identified by 24-h pancolonic ambulatory manometry. *Neurogastroenterol Motil* 15:515-22, 2003.
42. Rao S.S., Sadeghi P., Batterons K., Beaty J. Altered periodic rectal motor activity: a mechanism for slow transit constipation. *Neurogastroenterol Motil* 13:591-8, 2001.
43. Bassotti G., Chistolini F., Marinozzi G., Morelli A. Abnormal colonic propagated activity in patients with slow transit constipation and constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Digestion* 68:178-183, 2003.
44. De Schryver, A.M.P., Samsom M., Smout A.I.P.M. Effects of a meal and bisacodyl on colonic motility in healthy volunteers and patients with slow-transit constipation. *Dig Dis Sci* 48:1206-12, 2003.
45. O'Brien M.D., Camilleri M., von der Ohe M.R., Phillips S.F., Pemberton J.H., Prather Ch.M., Wiste J.A., Hanson R.B. Motility and tone of the left colon in constipation: A role in clinical practice?. *Am J Gastroenterol* 91:2532-8, 1996.
46. Wang L.M., McNally M., Hyland J., Sheahan K. Assessing interstitial cells of Cajal in slow transit constipation using CD117 is a useful diagnostic test. *Am J Surg Pathol* 32:980-5, 2008.
47. Tong W.D., Liu B.H., Zhang L.Y., Zhang S.B., Lei Y. Decreased interstitial cells of Cajal in the sigmoid colon of patients with slow transit constipation. *Int J Colorectal Dis* 19:467-3, 2004.
48. Lee J.I., Park H., Kamm M.A. Talbot I.C. Decreased density of interstitial cells of Cajal and neuronal cells in patients with slow-transit constipation and acquired megacolon. *J Gastroenterol Hepatol* 20:1292-8, 2005.
49. Lyford G.L., He C.L., Soffer E., Hull T.L., Strong S.A., Senagore A.J., Burgart L.J., Young-Fadok T., Szurszewski J.H., Farrugia G. Pan-colonic decrease in interstitial cells of Cajal in patients with slow transit constipation. *Gastroenterology* 125:264-5, 2003.
50. Toman J., Turina M., Ray M., Petras R.E., Stromberg A.J., Galandiuk S. Slow transit colon constipation is not related to the number of interstitial cells of Cajal. *Int J Colorectal Dis* 21:527-32, 2006.
51. Farrugia G., Interstitial cells of Cajal in health and disease. *Neurogastroenterol Motil* 20:54-63, 2006.

52. Chang I.Y., Glasgow N.J., Takayama I., Horiguchi K., Sanders K.M., Ward S.M. Loss of interstitial cells of Cajal and development of electrical dysfunction in murine small bowel obstruction. *J Physiol* 536:555-98, 2001.
53. Xiao Z.L., Pricolo V., Biancani P., Behar J. Role of progesterone signaling in the regulation of G-protein levels in female chronic constipation. *Gastroenterology* 128:667-75, 2005
54. Altomare D.F., Portincasa P., Rinaldi M., Di Ciaula A., Martinelli E., Amoroso A., Palasciano G., Memeo V. Slow-transit constipation. *Dis Colon Rectum* 42:231-40, 1999.
55. Madrid A.M., Defilippi C. ¿Existe en la constipación idiopática severa un trastorno difuso de la motilidad intestinal?. *Rev Med Chile* 134:181-6, 2006.
56. Bassotti G., Stanghellini V., Chiarioni G., Germani U., De Giorgio R., Vantini I. et al. Upper gastrointestinal motor activity in patients with slow-transit constipation. Further evidence for an enteric neuropathy. *Dig Dis Sci* 41:1999-2005, 1996.
57. Rao S.S.C. Dyssynergic defecation and biofeedback therapy. *Gastroenterol Clin N Am* 569-586, 2008.
58. Zarate N., Knowles Ch.H., Newell M., Garvie N.W., Gladman M.A., Lunniss P.J.M Scott S.M. In patients with slow transit constipation, the pattern of colonic transit delay does not differentiate between those with and without impaired rectal evacuation. *Am J Gastroenterol.* 103:427-34, 2008.
59. Camilleri M., Bharucha A.E., Di Lorenzo C., Hasler W.L., Prather C.M., Rao S.S. Wald A. American neurogastroenterology and motility society consensus statement on intraluminal measurement of gastrointestinal and colonic motility in clinical practice. *Neurogastroenterol Motil* 20:1269-82, 2008.
60. Hasler W.L., Saad R.J., Rao S.S. et al. Heightened motor activity measured by a wireless capsule in unprepared colons of patients with complaints of constipation: relation to colon transit and IBS. *Gastroenterology* 134:W1312, 2008.
61. Glia A., Akerlund J.E., Lindberg G. Outcome of colectomy for slow-transit constipation in relation to presence of small-bowel dysmotility. *Dis Colon Rectum* 47:96-102, 2004.
62. Bharucha A.E., Wald A., Enck P., Rao S. Functional anorectal disorders. *Gastroenterology* 130:1510-18, 2006.
63. Karling P., Abrahamsson H., Dolk A., Hallböök O., Hellström P.M., Knowles Ch.H., Kjellström L., Lindberg G., Lindfors P.-J., Nyhlin H., Ohlsson B., Schmidt P.T., Sjölund K., Sjövall H., Walter S. Function and dysfunction of the colon and anorectum in adults: Working team report of the swedish motility group (SMoG) *Scand J Gastroenterol* 4:1-15, 2009.
64. Andromanakos N., Skandalakis P., Troupis T., Filippou D. Constipation of anorectal outlet obstruction: Pathophysiology, evaluation and management. *J Gastroenterol Hepatol* 21:638-46, 2006.
65. Minguez M., Herreros B., Sanchiz V., Hernandez V., Almela P., Añon R., Mora F. and Benages A. Predictive value of the balloon expulsion test for excluding the diagnosis of pelvic floor dyssynergia in constipation. *Gastroenterology* 126:57-62, 2004.
66. Ganeshan A., Anderson E.M., Upponi S., Planer A.C., Slater A., Moore N., D`Costa H., Bungay H. Imaging of obstructed defecation. *Clin Radiol* 63:18-26, 2008.
67. Savoye-Collet C., Koning E., Dacher J-N. Radiologic evaluation of pelvic floor disorders. *Gastroenterol Clin N Am* 37:553-67, 2008.

Microbiota intestinal, prebióticos y probióticos

Martin Gotteland, Óscar Brunser

El tubo digestivo (TD) está poblado por a lo menos 800 especies distintas de bacterias y levaduras, la mayoría aún no identificada, que representan un total aproximado de 100 trillones (10^{14}) de microorganismos y forman la microbiota intestinal (MI). Se considera que hay 10 veces más bacterias en la MI que células que componen nuestro cuerpo y que el correspondiente genoma bacteriano (denominado metagenoma o microbioma) es 100 veces más numeroso que el propio genoma humano. Este ecosistema bacteriano complejo ha ido evolucionando junto con el ser humano en una estrecha relación simbiótica: la MI ejerce funciones nutricionales, metabólicas y protectoras indispensables para el huésped, mientras que éste le entrega nutrientes y crea condiciones favorables de crecimiento. Se considera que la MI es capaz de establecer un “diálogo” con la mucosa intestinal del huésped: estudios en ratones axénicos (sin microbiota) demuestran, por ejemplo, que la colonización de estos animales por *Bacteroides thetaiotaomicron* estimula la expresión de genes implicados en la defensa y la vascularización de la mucosa intestinal y en la digestión/absorción de nutrientes.

Colonización del tubo digestivo por la microbiota intestinal

El TD del feto humano es estéril durante el período de gestación y comienza a ser colonizado en el momento del parto; el niño que nace por la vía natural es colonizado por bacterias adquiridas por vía oral, que provienen principalmente de la microbiota fecal

de la madre. En efecto, se estima que los microorganismos de origen fecal tienen más tropismo para la mucosa intestinal y que, por lo tanto, la colonizan más fácilmente que aquellos de origen vaginal. En el caso de los niños que nacen por cesárea, la colonización es más lenta y los microorganismos implicados son distintos, provenientes en parte del ambiente hospitalario y del personal de salud en contacto con el niño.

La colonización también es influenciada por las condiciones de higiene que prevalecen durante el parto: por ejemplo, el tubo digestivo de los recién nacidos en Pakistán es colonizado en forma más rápida e intensa que el de los recién nacidos en Suecia. Se ha propuesto recientemente, en el marco de la “hipótesis de la higiene”, que este fenómeno podría ser uno de los factores implicados en la mayor frecuencia de patologías alérgicas y autoinmunes que se observa en los países con mayor nivel de higiene. Las especies bacterianas que colonizan el intestino en los primeros días de vida son principalmente anaerobias facultativas, tales como *E. coli* y estreptococos; consumen el oxígeno presente en el lumen colónico y generan un potencial redox negativo que permite la posterior colonización por anaerobios estrictos tales como las bifidobacterias, clostridios y *Bacteroides*. Otros componentes estables de la población bacteriana anaerobia del colon de los adultos son los peptostreptococos, peptococos, eubacterias y lactobacilos, aunque sus números son inferiores a los de *Bacteroides*, bifidobacterias, fusobacterias y clostridias que son dominantes. A medida que el recuento de bacterias anaerobias

estrictas aumenta en el colon, las anaerobias facultativas declinan, de tal manera que las primeras llegan a superar a las segundas en una proporción de 1.000:1. Este proceso sigue una secuencia que lleva finalmente al establecimiento de una microbiota individual y característica. La complejidad de este ecosistema confiere a la MI una cierta estabilidad que, en el largo plazo, la hace resistente a los cambios de su medio ambiente.

Distribución de la microbiota intestinal en el tubo digestivo

La MI no está distribuida homogéneamente a lo largo del tubo digestivo ya que existe una gradiente próximo-distal de microorganismos. A pesar de haber sido considerado como prácticamente estéril durante mucho tiempo en razón de su pH bajo, el estómago posee una microbiota poco numerosa pero específica y, en particular, poblaciones endógenas de lactobacilos; además, puede ser colonizado por el patógeno *H. pylori* que está adaptado a este ecosistema extremo. Los recuentos de bacterias tienden a ser bajos en el duodeno y yeyuno, con predominio de microorganismos aerobios (10^3 a 10^5 /g); los recuentos aumentan en el íleon (10^6 a 10^8 /g) y la proporción de anaerobios estrictos se incrementa. La válvula ileocecal impide el reflujo del contenido cecal hacia los segmentos más altos del intestino delgado y contribuye a mantener niveles bacterianos relativamente bajos en el íleon. La alteración de la función de esta válvula, descrita en pacientes con enfermedad de Crohn o con resección quirúrgica, se asocia con la contaminación del íleon terminal y con malabsorción de las sales biliares conjugadas y/o de vitamina B₁₂, cuyo transporte activo se efectúa en dicha región del intestino delgado. En el colon se encuentran las concentraciones más elevadas de bacterias, entre 10^9 y 10^{11} /g de contenido colónico, principalmente anaerobios estrictos (>99.9%).

En el colon derecho se producen procesos intensos de fermentación de carbohidratos, las poblaciones bacterianas están en crecimiento activo, existen al-

tas concentraciones (127 mM) de ácidos grasos volátiles (AGV) y el pH es bajo (5,4 - 5,9) mientras que en el colon izquierdo, los procesos de fermentación son menos intensos y utilizan mayormente proteínas como sustrato; por lo tanto, la concentración de AGV es menor (90 mM) y el pH más alto (6,6 - 6,9). Estas características hacen que las poblaciones bacterianas difieran en ambos segmentos del colon; también existen diferencias con la microbiota fecal.

Importancia de la dieta del recién nacido en la génesis de su microbiota intestinal

La leche materna posee hidratos de carbono que favorecen el establecimiento de una MI característica del lactante. La alta concentración de lactosa de la leche materna (71 g/L) hace que este azúcar no alcance a ser digerido en su totalidad por la lactasa del intestino proximal, y por lo tanto, cantidades de este hidrato de carbono llegan al colon. Su fermentación por poblaciones bacterianas como lactobacilos y bifidobacterias produce AGV que contribuyen a mantener bajo el pH del lumen. La leche materna, contrariamente a la leche de vaca, contiene además altas concentraciones de oligosacáridos complejos (~ 9-12 g/L), que actúan también como factores bifidogénicos. Los nucleótidos, así como algunos péptidos que provienen de la hidrólisis de la caseína tales como el glicomacropéptido, también estimulan el crecimiento de las bifidobacterias. Más recientemente se ha descrito la presencia en la leche materna de bacterias lácticas, lactobacilos, bifidobacterias, lactococos, estreptococos, enterococos, etc., que también podrían contribuir al proceso de colonización del tubo digestivo del recién nacido. Se han propuesto dos hipótesis para explicar este hallazgo: la primera de ellas es la formación de un biofilm que incorpora dichas bacterias en la superficie del pezón y de los galactóforos y que permitiría su liberación en la leche durante el amamantamiento. La otra hipótesis es que estas bacterias serían aportadas a la leche por células inmunes (células dendríticas por ejemplo) que serían capaces de fagocitar estas bacterias

en la mucosa intestinal de la madre y a continuación transitar por la circulación sistémica hasta la glándula mamaria donde las liberarían en la leche. El hecho que la función gástrica de secreción de ácido clorhídrico esté inmadura en el recién nacido, facilitaría la sobrevivencia de las bacterias lácticas aportadas por la leche materna y aumentaría la probabilidad de que puedan colonizar el TD. De esta forma la leche materna puede ser considerada como un simbiótico ya que está entregando al lactante posibles probióticos (lactobacilos y bifidobacterias) y prebióticos (lactosa, oligosacáridos, nucleótidos). La presencia de estos distintos factores explica porqué las bifidobacterias son más frecuentemente dominantes en las deposiciones de los lactantes amamantados que en aquellos que reciben fórmulas lácteas basadas en la leche de vaca. Se considera que los niños alimentados con leche materna tienen una MI más homogénea que aquellos que reciben fórmulas lácteas, con recuentos más bajos de clostridios, enterococos, *Klebsiella* y *Enterobacter* y más altos de bifidobacterias y lactobacilos. Cabe destacar, sin embargo, que el enriquecimiento cada vez más común de las fórmulas infantiles con fructo- y/o galacto-oligosacáridos tiende a disminuir las diferencias en la composición de la MI entre los recién nacidos alimentados con leche materna o con fórmula.

Mecanismos de control de la microbiota intestinal por el huésped

El organismo posee diversos mecanismos destinados al control de la proliferación de los microorganismos presentes en el tubo digestivo. La acidez gástrica es uno de los más eficaces, ya que el ácido clorhídrico es un excelente bactericida. Su disminución debido al consumo de fármacos, (bloqueadores de la bomba de protones o de los receptores H₂ de histamina), a procedimientos quirúrgicos y al envejecimiento, se asocia con el sobrecrecimiento de coliformes y de otros microorganismos gram negativos en el estómago y el duodeno. Los pacientes con aclorhidria tienden a sufrir episodios más graves de

salmonelosis o de cólera. Las sales biliares vaciadas en el lumen duodenal también ejercen un efecto bactericida. El peristaltismo es otro mecanismo de defensa importante; su alteración, que se traduce por una menor velocidad de progresión del contenido intestinal o incluso su estancamiento, puede ser debida a fármacos, a asas ciegas o divertículos, o a alteraciones de la inervación autónoma (como en la diabetes mellitus o la esclerodermia) y se asocia rápidamente con la proliferación de una MI anormal en el lumen del segmento afectado. Esto puede resultar en la aparición del síndrome del asa ciega, con deconjugación de las sales biliares, malabsorción de nutrientes y vitaminas y diarrea profusa.

El flujo de las secreciones hidroelectrolíticas y enzimáticas de la mucosa digestiva y de sus glándulas anexas arrastra mecánicamente bacterias y otros agentes exógenos potencialmente patógenos y favorece su eliminación. La liberación de lisozima y defensinas con actividad antibiótica por las células de Paneth de la mucosa intestinal, también contribuye a controlar la proliferación de los microorganismos en el fondo de las criptas. El mucus del tubo digestivo está formado principalmente por glicoproteínas de alto peso molecular, las mucinas, que son secretadas por las células caliciformes del epitelio y forman complejos macromoleculares con los péptidos en forma de trébol (trefoil factors) liberados por estas mismas células. El mucus forma una capa continua y viscosa adherida a la superficie de la mucosa y tiene la capacidad de ligar moléculas y de aglutinar bacterias mediante los residuos glucídicos de sus cadenas de hidratos de carbono; además, el mucus inhibe la adherencia de bacterias al epitelio intestinal. La misma microbiota residente representa un poderoso mecanismo de defensa que actúa por diversos medios: ocupa nichos específicos en la superficie de la mucosa y en el lumen intestinal, compite por nutrientes e inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos a través de la producción de peróxido de hidrógeno, bacteriocinas, AGV y el mantenimiento de un potencial de óxido-reducción bajo. Por otra parte, existen tanto en el epitelio como en la mucosa subyacente, distintos tipos de células inmunes

(macrófagos, neutrófilos, linfocitos B y T, mastocitos, etc.) que están también fuertemente implicadas en el control de la MI. La secreción de inmunoglobulina A secretora (IgA) específica, limita el acceso de bacterias a la superficie mucosa, disminuyendo el riesgo de que puedan atravesar el epitelio e invadir el organismo.

Funciones de la microbiota intestinal

Funciones nutricionales y metabólicas

Una de las principales funciones de la MI es la extracción de energía proveniente de los alimentos no digeridos ni absorbidos en el intestino delgado, haciéndola disponible para el huésped y evitando su pérdida total en las deposiciones. Los sustratos del rescate colónico son los carbohidratos no digeribles, principalmente el almidón resistente y los poli- y oligosacáridos que forman la fibra soluble presente principalmente en las frutas y verduras. Algunos microorganismos como *B. thetaiotaomicron* pueden expresar en su genoma hasta 175 hidrolasas distintas, lo que le permite adaptarse a la metabolización de la gran diversidad de polisacáridos presentes en la dieta y de aquellos endógenos presentes en la superficie del epitelio (glicocalix, mucinas). Los procesos de fermentación liberan agua, gases (CO₂, H₂, CH₄) y AGV, principalmente acetato, propionato y butirato en una proporción aproximada de 60%, 20% y 20%, dependiendo de la naturaleza de la fibra, los que son absorbidos por la mucosa colónica, permitiendo el rescate de energía. La importancia de este fenómeno está ilustrado por el caso de los ratones axénicos (sin MI) que requieren consumir 20 a 30% más alimento que los animales convencionales (con MI) para poder mantener curvas de crecimiento similares. Mientras que el butirato es metabolizado principalmente por los colonocitos, el acetato y el propionato son absorbidos y alcanzan concentraciones de 300 a 450 μM en la sangre portal y de 50 y 100 μM en la sangre periférica. Una vez captado por el hígado, el acetato sirve de sustrato preferencial para la gluconeogénesis y la síntesis de

colesterol y de triglicéridos mientras que el propionato inhibe la expresión génica de las enzimas hepáticas involucradas en esta lipogénesis *de novo*. El reconocimiento del rescate colónico como una fuente regular y significativa de calorías para el organismo hace que en la actualidad diversas instancias internacionales responsables (el Codex Alimentarius, por ejemplo) estén discutiendo la posibilidad de atribuir un cierto valor energético (~2 Kcal/g) a la fibra soluble presente en los alimentos.

La MI degrada también azúcares y proteínas endógenas como las mucinas producidas por las células caliciformes y las enzimas proteolíticas pancreáticas, cuya actividad resulta neutralizada. Otra función de interés nutricional es la producción de ciertas vitaminas (K, B₆, B₁₂, folato) que pueden ser absorbidas y aprovechadas por el organismo.

Por otra parte la MI tiene otras múltiples funciones metabólicas: deconjugua las sales biliares que llegan al colon hidrolizando el enlace de la glicina o la taurina. Las sales biliares deconjugadas interfieren con la absorción de agua y electrolitos en el intestino grueso. La MI también modifica la bilirrubina y los pigmentos biliares produciendo compuestos conocidos genéricamente como urobilinas, que dan su color particular a las deposiciones, proceso que está presente en los lactantes a partir del primer mes de edad. El metabolismo del colesterol también es afectado por la microbiota anaerobia estricta que puede deconjugarlo, modificar su absorción o transformarlo en compuestos como el coprostanol; es posible que de esta manera la microbiota pueda disminuir la disponibilidad del colesterol. La MI también participa en el metabolismo de xenobióticos como los estrógenos y fármacos tales como la digoxina, la rifampicina, la vitamina D, la morfina y la colchicina, que tienen circulación enterohepática. Estas sustancias, conjugadas en el hígado con sulfato, ácido glucurónico, taurina o glutatión son secretadas en la bilis y este enlace es hidrolizado en el intestino grueso por las sulfatasas, la β-glucuronidasa y otras enzimas bacterianas, lo que permite su reabsorción. Como parte de este proceso algunos fármacos son inactivados por la MI mientras que otros,

por el contrario, son activados y algunas moléculas son transformadas en carcinógenos. La MI también puede metabolizar los polifenoles y otros fitoquímicos aportados por la dieta. Estos compuestos, que se encuentran generalmente en forma glicosilada en las frutas y verduras, casi no son absorbidos en el intestino delgado y tienden a acumularse en el colon. Algunas poblaciones bacterianas tienen la capacidad de deglicosilar estos compuestos o metabolizarlos; las agliconas y/o los metabolitos resultantes pueden ser absorbidos, pasar a la circulación y ejercer efectos fisiológicos de interés para la salud del consumidor.

Funciones de defensa

Como se describió anteriormente, la MI ejerce un efecto de barrera frente a la multiplicación de patógenos oportunistas, porque compite en forma muy eficiente por los sitios de adherencia a la mucosa y por los nutrientes y porque puede inhibir su crecimiento a través de la liberación de bacteriocinas y otras moléculas con actividad antibiótica (H_2O_2). La MI, además, tiene un papel importante en la regulación del sistema inmune, como lo demuestran los animales axénicos, que tienen una mucosa intestinal con muy pocos linfocitos y células plasmáticas, pocos folículos linfoides, placas de Peyer de menor tamaño y niveles bajos de IgAs en su intestino en comparación con los animales convencionales. La MI contribuye a la maduración y “educación” del sistema inmune del recién nacido promoviendo en particular el desarrollo del fenómeno de “tolerancia oral” a antígenos de la dieta y bacterianos. También contribuye a la modulación de la inmunidad en el adulto; las alteraciones de la MI se asocian con desequilibrios del sistema inmune y el desarrollo de patologías como las alergias y enfermedades autoinmunes o inflamatorias.

Factores capaces de alterar la microbiota intestinal

Existe un delicado equilibrio entre los microorganismos inocuos, que constituyen la parte dominante de la MI, y aquellos potencialmente patógenos, que también pueden estar presentes en el intesti-

no, pero en menor cantidad. Cuando este equilibrio es adecuado, la microbiota actúa como una barrera que impide la multiplicación de estos patógenos así como su fijación a la mucosa gastrointestinal y la generación de efectos nocivos que se pueden traducir por la aparición de diarrea u otros síntomas gastrointestinales. Las alteraciones de la microbiota disminuyen la eficiencia de la función de barrera y favorecen el desarrollo de patógenos y la aparición de sintomatología. Estos cambios de la microbiota pueden ocurrir en forma fisiológica, como sucede durante el proceso de envejecimiento, en el cual los niveles de bifidobacterias o de lactobacilos tienden a disminuir. Por otra parte, factores de la vida cotidiana también pueden ejercer efectos negativos sobre la MI como el estrés (tanto físico como psicológico), el consumo de alimentos con contaminantes y el agua con alto contenido de cloro. Los antibióticos ejercen profundos efectos sobre la MI dependiendo de la especificidad de su actividad bactericida, de su vía de administración y de su concentración en el lumen del colon. En general, la administración de antibióticos se asocia con disminuciones considerables y transitorias de los recuentos de aerobios y anaerobios, que vuelven a sus niveles originales pocos días después de la interrupción del tratamiento. La disminución o la eliminación de poblaciones bacterianas dominantes puede dejar el campo libre a patógenos oportunistas que se vuelven capaces de desarrollar sus capacidades patógenas. El ejemplo más conocido es el de *Clostridium difficile* que produce dos toxinas (A y B) entero- y citotóxica, respectivamente, y es responsable de la enterocolitis pseudomembranosa. Prácticamente todos los antibióticos son capaces de alterar este equilibrio entre especies bacterianas y de permitir la proliferación de *C. difficile*. El consumo regular de antiinflamatorios, laxantes o antiácidos también altera el equilibrio de la flora así como los tratamientos de radio- o quimioterapia en los pacientes con tumores malignos. Finalmente, varios factores surgidos recientemente en la historia del ser humano probablemente están impactando en forma sostenida la MI, alterando paulatinamente su composición de generación en generación, sin que se conozcan las repercusiones de estos cambios a más largo plazo.

Patologías asociadas con alteraciones de la microbiota intestinal

Tanto en patologías digestivas (enfermedades inflamatorias crónicas del intestino, cáncer colo-rectal, constipación, diarreas) como en enfermedades alérgicas, autoinmunes (artritis, diabetes tipo 1) y metabólicas (obesidad, diabetes tipo 2) se han descrito alteraciones de la MI, acompañadas frecuentemente de modificaciones de la función intestinal de barrera y del sistema inmune asociado con la mucosa del tubo digestivo. Sin embargo, no se conoce aún con certeza si dichas alteraciones son causa o consecuencia de estas patologías. Es llamativo, sin embargo, que la incidencia de estas patologías haya aumentado en el último siglo paralelamente con los cambios de la alimentación y el modo de vida que ocurrieron en este periodo (Tabla 1). La hipótesis de la higiene y, más recientemente, la de los “viejos amigos” (“old friends”) han tratado de explicar la asociación entre las alteraciones de la MI y posibles desregulaciones del sistema inmune que se observan en los sujetos con alergias o con enfermedades autoinmunes o inflamatorias.

Microbiota intestinal, obesidad y diabetes

La hipótesis que propone que la MI favorece el almacenamiento de grasa en el organismo, surge de la observación que los ratones axénicos, a pesar de consumir 30% más alimento que los animales convencionales de la misma edad y peso, tienen 42% menos grasa corporal. La convencionalización de estos animales axénicos aumenta en sólo 10 días su grasa corporal en un 57% y disminuye correlativamente su consumo de alimentos (por lo cual su peso no se ve afectado). Este fenómeno se asocia con aumentos de su glicemia, insulinemia y leptinemia en ayunas así como de su contenido hepático de triglicéridos. A este fenómeno hay que agregar el rescate colónico de energía a partir de la fibra dietética que genera AGV utilizados a nivel hepático como sustrato para la lipogénesis *de novo*. En los animales convencionalizados, la actividad de la lipoproteína lipasa (LPL) aumenta en más de 100% en los tejidos adiposo y cardíaco, lo que podría explicar que el tamaño de sus adipocitos sea mayor en comparación con los ratones axénicos. El mayor almacenamiento de grasa en los animales con MI se debe a la inhibición de la

- Aumento del consumo de alimentos procesados
- Pasteurización de los alimentos
- Menor consumo de alimentos fermentados con bacterias vivas
- Menor consumo de alimentos ricos en fibra dietética
- Disminución de los partos naturales
- Disminución del amamantamiento
- Menor tamaño de las familias
- Urbanización
- Mejoramiento de las condiciones de higiene ambiental
- Uso y abuso de antibióticos y otros fármacos que afectan la MI
- Aumento de las inmunizaciones preventivas
- Menor incidencia de enfermedades infecciosas
- Mayor contaminación ambiental
- Modo de vida más estresante

Tabla 1. Factores que surgieron en el último siglo y que impactan en forma paulatina la composición de la MI del ser humano.

expresión intestinal de Fiaf (Fasting-induced adipocyte factor), una hormona que es expresada en forma constitutiva en la mucosa intestinal de los ratones axénicos y que actúa como inhibidor circulante de la LPL. En consecuencia, los ratones axénicos se ven protegidos de la obesidad cuando son alimentados con una dieta hipergrasa; además, presentan una tasa más elevada de oxidación de ácidos grasos en su músculo esquelético, capacidad que se pierde después de la convencionalización. Estos resultados sugieren que en el marco de la coevolución MI/huésped, la estimulación del almacenamiento de energía en forma de grasa pudo haber representado una ventaja selectiva para el ser humano, probablemente en épocas ancestrales, cuando era más difícil conseguir alimentos y las hambrunas eran más frecuentes. Por lo tanto la MI puede ser considerada como un nuevo aspecto del fenotipo ahorrativo del ser humano.

Por otra parte, la MI de los ratones obesos ob/ob (causados por una mutación del gen de la leptina) muestra un aumento de más del 50% en las concentraciones de Firmicutes y una disminución correlativa de los Bacteroidetes en comparación con los ratones con peso normal. A pesar de que las concentraciones cecales de AGV sean mayores en los ratones obesos, la cantidad de energía excretada en sus deposiciones es menor, lo que indica que el proceso de extracción de energía a partir de los alimentos por la MI y su absorción son más eficientes en los obesos. Una explicación para este hallazgo es que el número de genes dedicados a la hidrólisis de polisacáridos es mucho mayor en la microbiota de los animales obesos que en la de sus homólogos con peso normal. Es interesante notar que los ratones axénicos con peso normal que son convencionalizados con la MI de ratones obesos, almacenan más grasa corporal y ganan más peso que cuando son convencionalizados con la MI de ratones con peso normal, sugiriendo que se trata de una característica de la microbiota que es transmisible. En forma similar con lo observado en el ratón, la MI del ser humano obeso también muestra un mayor porcentaje de Firmicutes y menor de Bacteroidetes; dichas alteraciones se

normalizan a medida que los sujetos pierden peso. Otros estudios han confirmado la existencia de alteraciones de la MI en la obesidad, aunque existen diferencias importantes en las poblaciones bacterianas involucradas, debido probablemente a las características de los sujetos reclutados, su dieta o a las metodologías utilizadas para caracterizar la MI.

También se ha propuesto que los cambios de la MI en los obesos no se deben a la obesidad *per se* sino al contenido de grasa de la dieta. Por ejemplo, se ha demostrado que la administración de una dieta hipergrasa a ratones knock out para RELM- β (Resistin-like molecule- β), que se caracterizan por ser más resistentes a la obesidad, reproduce la alteración de la relación Firmicutes/Bacteroidetes independientemente del fenotipo obeso o no obeso de los animales. En otros estudios, la dieta hipergrasa aumenta las bacterias gram negativas (que sintetizan lipopolisacárido [LPS]) de la MI a expensas de las bacterias gram positivas, además de afectar la función intestinal de barrera de los animales. Este fenómeno resulta en incrementos de la concentración plasmática de LPS generando, por lo tanto, una endotoxemia metabólica. Los animales afectados muestran aumentos de sus concentraciones plasmáticas y tisulares de marcadores de inflamación (TNF- α , IL-6, IL-1 β , MIP-1) y de estrés oxidativo, y desarrollan resistencia a la insulina. Gran parte de estas alteraciones inducidas por la dieta rica en grasa son reproducidas por la infusión subcutánea crónica de LPS. En forma interesante, la administración de prebióticos protege de estas alteraciones, probablemente a través de su fermentación y de la generación de AGV capaces de estimular la liberación de GLP-2, una hormona digestiva con actividad trófica para la mucosa intestinal, por las células enteroendocrinas del epitelio intestinal.

Corroborando estos hallazgos, la ingesta de una comida hipergrasa aumenta las concentraciones plasmáticas de LPS en sujetos sanos, lo que contribuye al desarrollo de un estado inflamatorio postprandial y a la activación de las células endoteliales; un estudio en 200 varones también ha descrito una correlación entre la endotoxemia y el consumo de

energía y de grasa. Sin embargo, hasta la fecha no se han reportado alteraciones de la función intestinal de barrera en los obesos.

Probióticos

Origen de los probióticos

El origen de los probióticos se remonta probablemente a la antigüedad, cuando el ser humano empezó en forma empírica a utilizar los procesos de fermentación para mejorar la conservación de sus alimentos. Prácticamente todas las materias primas alimentarias, tanto vegetales como animales, pueden ser fermentadas originando una variedad inmensa de productos. Se estima que se fabrican en el mundo más de 3.500 tipos de alimentos fermentados artesanales que representan alrededor del 30% de los alimentos consumidos. Las bacterias que participan de estos procesos fermentativos varían según las zonas geográficas y las materias primas utilizadas, pero un factor común es en general la presencia de bacterias lácticas que pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, etc., aunque existan diferencias considerables en cuanto a las especies y sobre todo en las cepas involucradas.

El consumo regular de alimentos fermentados artesanales significa que el tubo digestivo del ser humano recibe diariamente una gran cantidad y diversidad de bacterias lácticas, algunas de ellas capaces de sobrevivir este proceso. Se considera que existe una interrelación estrecha entre las poblaciones de bacterias lácticas autóctonas que forman parte de la MI del ser humano y aquellas poblaciones alóctonas que, desde periodos ancestrales, han sido aportadas por la dieta. Tanto la industrialización de la elaboración de alimentos como los progresos en los procesos de esterilización/pasteurización que ocurrieron en el siglo XX han conllevado una disminución de las cantidades de bacterias lácticas vivas consumidas y de su diversidad (ya que las empresas de alimentos de todo el mundo tienden a utilizar los mismos fermentos lácticos comerciales).

El concepto de que algunos alimentos podrían contener bacterias benéficas fue planteado por Ilya Metchnikoff, premio Nobel de fisiología en 1908. Este científico estudió un grupo de campesinos longevos de Bulgaria cuya dieta se caracterizaba por el consumo de grandes cantidades de yogurt. De dicho producto aisló una cepa de *Lactobacillus* y propuso que este microorganismo podía implantarse en el colon, donde inhibía la proliferación de agentes indeseables y neutralizaba las aminas, el amonio y otras sustancias tóxicas generadas por reacciones químicas de tipo putrefactivo en que participaban algunas bacterias residentes del colon. El restablecimiento de un balance apropiado de la MI por la flora acidófila a expensas de las bacterias putrefactivas prevendría las enfermedades degenerativas y mejoraría la calidad de vida de los consumidores, favoreciendo un envejecimiento saludable. En el mismo período, Tissier describió que bacterias bifurcadas, a las que llamó *Bacillus bifidus* y que posteriormente fueron denominadas *Bifidobacterium*, predominaban en las heces de los niños amamantados y que cuando se sustituía la leche materna por leche de vaca y/u otros alimentos, su microbiota se volvía más variada y desaparecía el predominio de las bifidobacterias. Como los lactantes amamantados son más resistentes a la diarrea aguda, Tissier atribuyó esta ventaja a la proliferación de las bifidobacterias en el colon de los lactantes amamantados.

Definiciones, criterios de selección y microorganismos implicados

La palabra “probiótico” fue usada con su significado actual por Parker quien la acuñó para describir organismos o sustancias que contribuyen al balance de la MI. Unos 15 años después, Fuller extendió este concepto definiendo a las bacterias probióticas como “suplementos microbianos vivos que afectan de manera positiva al huésped animal, porque mejoran su balance microbiano intestinal”. Esta definición, más amplia e inclusiva, enfatiza el requerimiento de que los probióticos estén vivos al ser

ingeridos, que ejercen influencias positivas sobre la MI del huésped y que significan beneficios para éste. A lo largo de los años se fueron estableciendo consensos acerca de una definición más precisa de probiótico que fue finalmente formulada por un Comité Experto de OMS/FAO que los describió como “microorganismos vivos que, cuando son ingeridos en números adecuados como parte de un alimento, aportan beneficios a la salud del huésped”. Estas definiciones ponen énfasis en el concepto que para que los probióticos ejerzan sus efectos deben ser ingeridos en números que deben exceder un cierto umbral.

Para ser considerada como probiótico, una bacteria debe satisfacer ciertos requerimientos: ser de origen humano (aunque algunas especies provienen de plantas o productos lácteos) y ser capaces de resistir los efectos de la acidez gástrica, de las sales biliares conjugadas y de las enzimas intestinales y pancreáticas de manera de poder sobrevivir a su tránsito a lo largo del tubo digestivo y ejercer los efectos favorables. Adicionalmente, deben ser capaces de adherirse a las células del epitelio gástrico, intestinal o colónico, propiedad que facilita su persistencia en el TD. Cabe destacar, sin embargo, que todos los ensayos clínicos realizados indican que los probióticos no colonizan el tubo digestivo en forma permanente, sino que desaparecen en una a tres semanas una vez interrumpido el consumo del producto que los contiene. Los únicos ejemplos de colonización más permanente, ocurren cuando madres embarazadas consumen un probiótico antes del parto y éste coloniza el tubo digestivo del recién nacido al momento del nacimiento. En esta situación especial se han descrito tiempos de permanencia de hasta dos años del probiótico en el intestino.

El microorganismo probiótico debe ser acuciosamente caracterizado tanto fenotípicamente como genotípicamente y su inocuidad debe ser comprobada. El candidato probiótico debe además ser manejable tecnológicamente por la empresa que lo está utilizando. Esto significa que su cultivo no debe ser fastidioso,

de manera de poder obtener en el producto concentraciones que sean compatibles con sus efectos sobre el organismo (generalmente $>10^7$ microorganismos/g de producto al momento del consumo) y debe ser viable durante el período de almacenamiento del producto a 4°C; además, debe resistir satisfactoriamente a los procesos de congelación, liofilización o atomización (spray-drying) y no debe alterar el sabor o la consistencia del producto, ni interferir negativamente con las otras cepas lácticas presentes. Por otra parte, sus características funcionales deben persistir cuando está incorporado al producto.

Durante los últimos años se ha evaluado un número considerable de bacterias con el fin de determinar si poseen propiedades que representen un potencial probiótico. La Tabla 2 es una lista parcial de las principales cepas probióticas para las cuales existe evidencia de efectos benéficos sobre la salud. Es importante destacar que dichos efectos son cepa-específicos: diferentes cepas de una misma especie pueden tener capacidades funcionales diferentes, incluso antagónicas. En la actualidad la mayoría de los probióticos comercializados pertenecen a los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*. Existen también microorganismos no lácticos que se usan como probióticos, como cepas específicas de *E. coli*, o levaduras como *Saccharomyces boulardii*, aislada a partir de la piel de una fruta tropical, que no son incorporadas a alimentos.

La selección de estas cepas se ha traducido en el desarrollo de numerosos productos alimenticios. Si bien la mayoría de los productos que contienen probióticos son lácteos, los progresos de la ingeniería de alimentos están permitiendo incorporar estos microorganismos en forma deshidratada (mediante liofilización o secado-spray) o microencapsulada a una gama cada vez más amplia de productos tales como fórmulas infantiles, jugos de fruta, leche en polvo, chocolate, helados, goma de mascar, etc., incluyendo productos horneados gracias al uso de microorganismos esporulantes como *Bacillus coagulans*.

Género <i>Lactobacillus</i>:	Género <i>Bifidobacterium</i>:
- <i>L. acidophilus</i> NCFM	- <i>B. animalis</i> spp. <i>lactis</i> Bb12
LAFTI L10	HN019
LA-5	DN173 010
- <i>L. johnsonii</i> NCC533	420
- <i>L. plantarum</i> 299v	- <i>B. breve</i> Yakult
- <i>L. rhamnosus</i> HN001	- <i>B. longum</i> BB536
GG	
LCR 35	
- <i>L. reuteri</i> AT 55730	Otros microorganismos:
- <i>L. casei</i> DN114-001	- <i>Streptococcus (salivarius, lactis)</i>
Shirota	- <i>Pediococcus</i>
LAFTI L26	- <i>Enterococcus (faecium)</i>
431	- <i>Propionibacterium</i>
CRL431	- <i>Escherichia coli</i> (Nissle 1917)
- <i>L. paracasei</i> ST11	- <i>Bacillus (clausii, coagulans)</i>
	- <i>Saccharomyces boulardii</i>

Tabla 2. Microorganismos usados como probióticos en el ser humano.

Inocuidad de los probióticos

Como se describió anteriormente, es importante tener en consideración que se trata de microorganismos con los que el ser humano ha estado conviviendo por miles de años, ingiriendo muchos de ellos en diferentes productos fermentados. Los probióticos son microorganismos GRAS (Generally Recognized As Safe) cuya incorporación a alimentos está autorizada. Lactobacilos y bifidobacterias son bacterias Gram-positivas que carecen de LPS, por lo que tienen un bajo potencial patogénico. Las cepas probióticas seleccionadas deben ser evaluadas en cuanto a la presencia de plásmidos portadores de resistencia a antibióticos, potencialmente transmisibles a otros miembros de la MI. En caso de estar presentes, dichos plásmidos deben ser eliminados antes de poder usar la cepa como probiótico. La cepa probiótica

también debe ser evaluada en cuanto a su inocuidad en modelos animales: se determina si la administración regular de altas dosis del potencial probiótico es capaz de alterar la integridad de la mucosa digestiva de los animales, alterar su perfil bioquímico o hematológico o inducir translocación bacteriana hacia la circulación y órganos lejanos como el bazo o el hígado.

Pese a que los probióticos son considerados inocuos, la descripción de casos esporádicos de septicemia o endocarditis asociadas principalmente con lactobacilos, ha mantenido a la comunidad científica en alerta. Existen en la literatura publicaciones de episodios de invasión del torrente sanguíneo por microorganismos del género *Enterococcus*, pero es un hecho conocido que este organismo causa endocarditis a partir de una fuente endógena, generalmente el colon. Aunque en algunos casos se ha podido de-

mostrar por métodos moleculares que los microorganismos involucrados provenían de un alimento que contenía un probiótico, esto no ha podido ser confirmado en la mayoría de los casos, sugiriendo por lo tanto que se trataba de microorganismos autóctonos provenientes de la MI de los afectados. Cabe destacar que la mayor parte de estos pacientes tenían patologías intercurrentes graves tales como síndrome del intestino corto, sondas para alimentación enteral o catéteres endovenosos centrales instalados en forma crónica, o comorbilidades de alta gravedad. Conviene subrayar además que estos casos son tan escasos comparados con la población consumidora de productos con probióticos, que pueden ser considerados como anecdóticos. Existe un consenso creciente entre los especialistas que los probióticos no deben ser administrados a individuos que estén en riesgo de desarrollar una falla orgánica. El riesgo asociado con la administración de bacterias probióticas es, sin embargo, mínimo si se tiene en cuenta que han sido administradas a individuos que han sufrido traumatismos graves, intervenciones quirúrgicas complejas, incluyendo casos de trasplante hepático o pancreato-duodenectomía, cirrosis hepática y encefalopatía hepática leve a moderada, así como a prematuros de muy bajo peso de nacimiento, ancianos, mujeres embarazadas, pacientes con VIH u oncológicos sin que se hayan reportado efectos adversos.

Los probióticos en la diarrea aguda y la diarrea asociada a antibióticos

La diarrea aguda sigue causando entre uno y tres millones de muertes cada año en la población pediátrica y es una de las principales causas de malnutrición; incluso explica el 13% de las hospitalizaciones en países desarrollados como los Estados Unidos. A medida que mejoran las condiciones de salubridad, la incidencia de diarrea asociada con bacterias como *E. coli* y *Shigella* disminuye mientras que aumentan los casos de diarrea asociada con rotavirus y norovirus. Distintos ensayos clínicos han mostrado que la ad-

ministración de *L. rhamnosus* GG (LGG), *L. reuteri*, *B. lactis* Bb12, *B. breve* o *S. thermophilus* 065 acorta en aproximativamente un día la duración de los episodios. Aún si este efecto aparece como modesto, considerando el gran número de niños afectados y la frecuencia con que estos episodios se repiten, representa una disminución importante de la carga que deben afrontar los servicios de salud en términos de números de consultas, hospitalizaciones, tratamientos y costos. La administración de *L. reuteri* o de LGG se asocia con una menor excreción fecal de rotavirus, tanto durante el episodio de diarrea como en la etapa de convalecencia, y con aumentos de la respuesta de IgAs específica anti-rotavirus, fenómenos que podrían disminuir los casos secundarios. Este efecto es cepa-específico; no se han observado efectos comparables sobre la diarrea de origen bacteriano.

La diarrea asociada con los antibióticos (DAA) ocurre generalmente en asociación con la administración de antibióticos capaces de disminuir la población residente de bacterias anaeróbicas, siendo el principal microorganismo involucrado *Clostridium difficile* y con menor frecuencia *Klebsiella oxytoca*, salmonellas multiresistentes, *C. albicans* y *C. tropicalis*. La incidencia de DAA oscila entre 5 y 25%, dependiendo del tipo de antibiótico empleado; los síntomas varían desde episodios leves hasta cuadros muy graves, tales como el megacolon tóxico, que pueden poner en peligro la vida de los afectados. La administración de *S. boulardii* o de algunos lactobacilos ha demostrado representar una opción terapéutica, especialmente en el caso de *C. difficile*. El efecto de *S. boulardii* está asociado con su capacidad de neutralizar las citotoxinas producidas por este agente porque libera una proteasa capaz de degradarlas así como a su receptor en la mucosa colónica. *S. boulardii* ejerce también efectos tróficos sobre la mucosa intestinal, debido a su alto contenido de poliaminas y tiene efectos antiinflamatorios, debido a la modulación de las vías de señalización de la MAP-quinasa y del NF- κ B, que resulta en una menor secreción de interleuquina (IL)-8 por las células epiteliales activadas.

Los probióticos en la diarrea del viajero

La diarrea del viajero afecta mayormente a individuos que viajan desde un país con buen saneamiento ambiental a regiones menos desarrolladas; sin embargo, también afecta a individuos que viajan en sentido contrario, lo que significa que para este cuadro no existen lugares protegidos. Se estima que es el resultado de la ingestión de alimentos, agua o cualquier otra bebida contaminados con microorganismos de origen fecal. El período de incubación es de dos a tres días y la duración de los síntomas es variable; en general el episodio es autolimitado y se caracteriza por evacuaciones diarreicas, dolor abdominal cólico, vómitos y fiebre baja. En algunos casos los síntomas son intensos y los pacientes pueden llegar a grados importantes de deshidratación que requieren su hospitalización; esto es especialmente notable en los niños, los pacientes con compromiso previo de su sistema inmune y los ancianos. La mayor parte de los episodios son causados por enteropatógenos bacterianos (*E. coli* enteropatógena, *E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enteroagregativa, distintas cepas de *Salmonella* o *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Plesiomonas shigelloides*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* y *Vibrio cholerae*), parásitos (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cyclospora* y *Cryptosporidium*) o virus (rotavirus y norovirus). En un tercio de los pacientes no se identifica ningún agente etiológico potencial.

La mejor estrategia para enfrentar la diarrea del viajero es la prevención. Sin embargo, en muchos casos es necesario llegar a algún tipo de tratamiento y los probióticos han sido utilizados con este objetivo; desde el punto de vista conceptual es lógico usar los probióticos ya que son inocuos, compiten con los enteropatógenos y han demostrado ser efectivos. En ensayos controlados con placebo se demostró que *S. boulardii* es efectivo, pero los resultados varían dependiendo del área a la que se traslada el viajero; *Lactobacillus* GG también fue efectivo. Las mezclas de probióticos han producido resultados variables. Algunas de las diferencias geográficas en cuanto a los

resultados clínicos de los probióticos son difíciles de interpretar debido al empleo de diferentes vehículos para su administración y a los diversos patógenos contra los que deben actuar. La administración de los probióticos debería comenzar dos o tres días antes de la exposición y debería ser continuada por una semana más o menos después que dicha exposición ha concluido.

Los probióticos y la colonización por *H. pylori*

H. pylori es un patógeno altamente prevalente que coloniza la superficie de la mucosa gástrica de los seres humanos; es el agente etiológico de la úlcera gastroduodenal y es considerado un factor de riesgo para el cáncer gástrico. La colonización por este agente es precoz y afecta a una alta proporción de la población infantil en los países en vías de desarrollo. Aunque los individuos colonizados desarrollan una gastritis crónica, la mayoría permanece asintomática y, por lo tanto, no debería recibir tratamientos con antibióticos. Los tratamientos de erradicación tienen alto costo, no son totalmente efectivos debido a la aparición de resistencia y se asocian con efectos adversos que afectan su cumplimiento. Además, en el caso de la población pediátrica, muchos de los niños tratados vuelven a ser colonizados rápidamente. Por estas razones, se ha propuesto que los probióticos podrían representar herramientas útiles para el manejo de la colonización por *H. pylori* en poblaciones colonizadas y asintomáticas. Algunos probióticos ejercen actividades bactericidas frente a *H. pylori* a través de la liberación de bacteriocinas y tal vez de ácidos orgánicos, o inhiben su adherencia a las células epiteliales gástricas, interfiriendo la colonización de la mucosa del estómago. Muchas cepas probióticas ejercen actividades antioxidantes y antiinflamatorias, que son de utilidad para disminuir la intensidad de la gastritis asociada con la presencia de *H. pylori*. Se ha mostrado, por ejemplo, que la administración por cuatro semanas de un producto con *L. johnsoni* NCC533 a niños chilenos

asintomáticos, disminuía significativamente la colonización comparado con el placebo. En otro estudio también realizado en Chile, la misma cepa, sola o en combinación con jugo de cranberry, logró erradicar a *H. pylori* en 14,9 y 22,9%, de los niños colonizados, respectivamente. Tasas similares de erradicación fueron observadas con *S. boulardii* en otro ensayo. Por otra parte, los probióticos han sido también empleados en combinación con el tratamiento anti-*H. pylori* para tratar de incrementar su eficiencia o de disminuir sus efectos adversos. Los resultados, de nuevo, varían considerablemente según la cepa probiótica utilizada: por ejemplo, la administración por 14 días de una leche fermentada con *L. casei* DN-114 a niños sintomáticos colonizados por *H. pylori*, junto con el tratamiento con antibióticos y omeprazol aumentó a 84,6% la tasa de erradicación, comparado con el placebo (57,5%). Estos estudios sugieren que algunos probióticos pueden ser útiles para mantener niveles bajos de *H. pylori* y para disminuir los procesos inflamatorios crónicos en el antro gástrico de los niños colonizados. Sin embargo, es necesario practicar estudios con mejores diseños y con números de participantes adecuados para poder obtener conclusiones más sólidas.

Los probióticos en el manejo de la enterocolitis necrotizante

La enterocolitis necrotizante (ECN) es una patología gastrointestinal grave, que afecta predominantemente a prematuros de muy bajo peso de nacimiento durante las primeras semanas de su hospitalización en unidades de cuidados intensivos neonatales. Se trata de una enfermedad compleja, multifactorial, que probablemente está asociada con la inmadurez de las funciones intestinales y del sistema inmune local y sistémico, además de los efectos de la alimentación enteral y de la colonización microbiana del lumen intestinal, con producción de gas y de moléculas que afectan de manera negativa las funciones de los enterocitos.

En 1999 Hoyos demostró que la incidencia de la ECN

así como su mortalidad disminuían en los prematuros, cuando se les administraba cepas de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium lactis*. Sus hallazgos fueron confirmados por otros estudios y un metaanálisis reciente del Cochrane Database Systematic Review concluyó que la administración enteral de probióticos disminuía de manera significativa la incidencia de las formas graves de ECN (etapas II o más) así como su letalidad. Los mecanismos involucrados en este efecto incluyen la disminución de la colonización intestinal por patógenos, el aumento de la eficiencia de la función intestinal de barrera frente a la translocación de microorganismos hacia la circulación, la estimulación de las respuestas inmunes del huésped y la mejoría de la eficiencia de la nutrición enteral. El estudio, sin embargo, no concluye en cuanto al efecto protector de los probióticos en los niños con peso de nacimiento extremadamente bajo debido a su bajo número en los ensayos clínicos realizados. Es importante hacer notar que en ninguno de los estudios efectuados hasta el presente, se han descrito infecciones sistémicas atribuibles a los probióticos administrados.

Los probióticos y el manejo de la alergia

Las manifestaciones de atopia, tales como el eczema, la rinitis alérgica y el asma, son fenómenos alérgicos crónicos cuya prevalencia ha aumentado durante los últimos 20 - 30 años. Se estima que las alergias a alimentos afectan a 3,5% de los adultos y a 8 a 10% de los pacientes en edad pediátrica; los alérgenos de los alimentos involucrados con mayor frecuencia provienen del huevo, el maní y las nueces, la leche, los pescados, los crustáceos, el trigo, el kiwi y la mostaza. Como ha sido mencionado anteriormente, parece haber una relación inversa entre el número de episodios infecciosos que ocurren durante los primeros años de la vida y el subsecuente desarrollo de la atopia. La mayor frecuencia de las alergias también podría estar relacionada con alteraciones de la colonización bacteriana del tubo digestivo del recién nacido, cambios de los patrones de consumo

de alimentos o de su procesamiento industrial que hace desaparecer toda o parte de su microbiota. Diversos estudios sugieren que existiría una relación entre los cuadros alérgicos y la composición de la MI. Los lactantes alérgicos, y especialmente aquellos con eczema atópico, presentan poblaciones fecales de *Bifidobacterium* correspondientes a una flora “adulta”, es decir, caracterizadas por recuentos altos de *B. adolescentis* y *B. longum*, mientras que sus pares sanos tienen recuentos altos de *B. bifidum*. Otras poblaciones de bacterias, algunas de ellas pertenecientes a los géneros *Clostridium*, *Bacteroides* y *Staphylococcus* también pueden estar alteradas y sus números pueden estar correlacionados con los niveles de IgE sérica. Estudios in vitro indican que una MI de este tipo está asociada con una mayor síntesis de TNF- α y de IL-12 por los macrófagos. Cabe destacar que la MI participa en la génesis de la tolerancia inmune oral porque orienta el patrón de respuesta de tipo Th2, característico de los recién nacidos, hacia un perfil de respuesta inmune de tipo celular Th1 y porque estimula la secreción de IgAs y TGF- β . Además, la MI también participa en la regulación de la función de barrera del tubo digestivo en un proceso que bloquea la transferencia de antígenos y de los microorganismos que pueden estar implicados en la génesis de las respuestas inmunes alteradas de los niños atópicos.

Los probióticos modulan la homeostasis de la MI y varios ensayos clínicos, principalmente realizados en Finlandia, han sido desarrollados para determinar su eficiencia en aliviar los síntomas del eczema atópico en niños. LGG, y en algunas investigaciones *B. lactis* Bb12, disminuyen el SCORAD así como la excreción fecal de α -1 antitripsina y TNF- α , los niveles plasmáticos de sCD14 y la excreción urinaria de la proteína X de los eosinófilos. La administración de LGG antes del parto y durante la lactancia a mujeres embarazadas con antecedentes atópicos disminuye la incidencia de eczema atópico en sus hijos (23% vs 46% en los grupos que recibieron el probiótico y el placebo, respectivamente); este efecto protector persiste en los niños tratados por lo menos siete años, sugiriendo, por lo tanto, que la

administración de probióticos antes y después del parto dejaría una huella en el aparato inmune de los dos huéspedes, la madre y el hijo, que persistiría por años y que sería capaz de prevenir el desarrollo de manifestaciones de atopia. En la dermatitis atópica, la administración diaria de LGG por cuatro semanas disminuye el índice SCORAD en aquellos niños con niveles elevados de IgE.

Los probióticos en el manejo del síndrome del intestino irritable

El síndrome del intestino irritable (SII) es un trastorno funcional caracterizado por síntomas tales como dolor abdominal, meteorismo y episodios de diarrea o de constipación. Estos síntomas ocurren en ausencia de lesiones demostrables de la pared intestinal y pueden persistir por períodos prolongados durante los cuales su intensidad aumenta o disminuye en forma impredecible. Los pacientes afectados por el SII representan un grupo bastante heterogéneo en el que se ha ensayado una gran variedad de tratamientos con resultados difíciles de evaluar, generalmente decepcionantes. Con cierta frecuencia las primeras manifestaciones del SII aparecen después de un episodio de diarrea aguda, mayormente de etiología viral o después de tratamientos con antibióticos y por estos motivos se ha considerado que en su patogenia debe participar algún tipo de alteración de la MI. La fisiopatología del SII es multifactorial y puede incluir tanto alteraciones de las funciones motoras como sensitivas, respuestas inmunes anormales y predisposiciones genéticas; este cuadro es más frecuente en las mujeres. En individuos con este cuadro se han descrito disminuciones de los recuentos fecales de bifidobacterias, lactobacilos y *E. coli* con aumentos concomitantes de otros grupos de microorganismos como las clostridias. Algunos pacientes muestran síntomas y signos de incremento de las fermentaciones colónicas, incluyendo meteorismo y flatulencia. Los probióticos pueden modificar la composición y el metabolismo de la MI y ejercer además efectos antiinflamatorios así como influir en la adaptación de la vascularización intestinal, indu-

ciendo cambios en los parámetros funcionales de la mucosa del colon y en la protección de su superficie frente a patógenos potenciales.

L. acidophilus NCFM induce en forma específica la expresión de receptores opioides y endocannabinoides en células epiteliales intestinales. En un modelo de hipersensibilidad visceral en ratas, esta cepa ejerce efectos analgésicos, elevando el umbral de dolor en forma similar a lo que produce la morfina. Estas observaciones sugieren que la MI puede influir sobre la percepción visceral de los seres humanos. Dicha actividad analgésica podría explicar el efecto de la administración de *L. reuteri* para disminuir el llanto de lactantes con cólicos.

La mayoría de los estudios controlados acerca de los efectos de los probióticos sobre la evolución del SII, ponen de manifiesto que esos inducen algún grado de mejoría de la sintomatología y del índice de calidad de vida, con estabilización de la MI, regulación del tiempo de tránsito intestinal, pero sin cambios de la concentración fecal de ácidos grasos de cadena corta o de los parámetros que indican la presencia de procesos inflamatorios, como la proteína C-reactiva.

Los probióticos y las enfermedades inflamatorias crónicas del tubo digestivo

La colitis ulcerativa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC) son enfermedades inflamatorias crónicas del tubo digestivo (EII) que se caracterizan por episodios recurrentes de diarrea, frecuentemente con sangre, dolor abdominal, fiebre, malestar generalizado y pérdida de peso. La CU está principalmente confinada al colon, mientras que la EC afecta cualquier segmento del tubo digestivo y presenta a veces manifestaciones extraintestinales. La incidencia de estas patologías varía entre 3 y 15 por 100.000 habitantes en los países desarrollados y tiende a aumentar en los países emergentes, como es el caso de Chile. El tratamiento médico busca inducir la remisión de los episodios agudos de inflamación a través de la administración de distintos tipos de antiinflamatorios; en una proporción de los casos la resección del seg-

mento afectado es necesaria, debido principalmente al riesgo de transformación maligna.

En la patogenia de las EII interviene la susceptibilidad genética del huésped y la desregulación del sistema inmune y de la MI. El papel de la MI en el desarrollo de ambos cuadros inflamatorios está ilustrado por el hecho que algunos antibióticos, como el metronidazol y el ciprofloxacino, son capaces de inducir remisiones. La disminución o desaparición de poblaciones bacterianas antiinflamatorias como aquellas de *Faecalibacterium prausnitzii* o de *Bifidobacterium* y el consecuente aumento de poblaciones con mayor actividad proinflamatoria, podrían favorecer la inducción y el mantenimiento de los procesos inflamatorios intestinales a través de interrelaciones complejas con el sistema inmune local. Este concepto representa también la base racional para el uso de los probióticos. Muchos de los ensayos clínicos destinados a evaluar el efecto de los probióticos en la EII fueron realizados con bajos números de pacientes y a veces en forma no controlada y abierta, lo que limita sus conclusiones. La cepa probiótica *E. coli* Nissle 1917, utilizada en tres estudios distintos con un total de 567 pacientes con CU en remisión, no afecta la tasa de recaídas, en comparación con el placebo (5-ASA); sin embargo, esta misma cepa disminuye la recurrencia postoperatoria, en un estudio efectuado en 28 pacientes con EC. VSL3, un preparado probiótico constituido por la asociación de cuatro cepas de lactobacilos (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* y *L. delbrueckii* subespecie *bulgaricus*), tres cepas de bifidobacterias (*B. longum*, *B. breve* y *B. infantis*) y una cepa de estreptococos (*S. salivarius* subespecie *thermophilus*) ha mostrado ser capaz de reducir la tasa de recaídas de pacientes en remisión con pouchitis refractaria o con EC en cuatro estudios distintos. En algunos pacientes se detectaron disminuciones de la activación del NF- κ B junto con aumentos de la liberación de citoquinas antiinflamatorias. En otras investigaciones, utilizando por ejemplo *Lactobacillus* GG o *L. johnsonii* NCC533, los resultados no fueron concluyentes. Tal como se ha observado en otras patologías, los efectos protectores de los probióticos parecen ser cepa-específicos.

Una revisión reciente del Cochrane Database desaconseja el uso de probióticos en el manejo de la EC.

Probióticos y cáncer

El cáncer colorectal (CCR) es la tercera forma más prevalente de este tipo de enfermedad tanto en los varones como en las mujeres. Diversos estudios epidemiológicos sugieren que existe una relación entre la aparición de cánceres del colon y la calidad de la dieta. Es probable que la MI esté involucrada en el desarrollo del CCR debido a que ciertas poblaciones bacterianas expresan actividades enzimáticas involucradas en la generación de productos mutagénicos o procarcinogénicos en el lumen colónico. Existe evidencia de que el consumo de productos lácteos fermentados que contienen lactobacilos y bifidobacterias puede tener un papel en la prevención del CCR, pero los mecanismos responsables de este efecto no se conocen en detalle. El consumo por sujetos sanos por 10 días de *L. acidophilus* NCFM y N-2 disminuye las actividades de la β -glucuronidasa, nitroreductasa y azoreductasa fecales, que están involucradas en la producción de moléculas procarcinogénicas; dichas actividades se incrementan nuevamente al interrumpir el consumo de estas cepas. Algunas cepas como *L. casei* Shirota tienen efectos similares mientras otras (*L. rhamnosus* DR20, *L. plantarum* 299v) no causan disminuciones de estas enzimas.

Los probióticos también pueden jugar un papel protector porque secuestran o degradan carcinógenos, muchos de los cuales provienen de la dieta occidental, rica en carnes rojas. Estudios en ratones indican que algunos lactobacilos disminuyen la captación de mutágenos por diferentes tejidos. Observaciones en voluntarios humanos han evidenciado que el consumo de productos con lactobacilos disminuye la excreción urinaria y fecal de mutágenos. Adicionalmente, la fermentación bacteriana produce AGV a partir de los polisacáridos fermentables y el ácido butírico así formado además de su efecto antiinflamatorio, estimula la diferenciación y apoptosis en

las células del epitelio colónico. El butirato también disminuye el número de focos crípticos aberrantes en ratas tratadas con azoximetano, un poderoso carcinógeno.

Otros mecanismos a través de los cuales los probióticos pueden actuar como factores antitumorales, están relacionados con la estimulación de la inmunidad local y sistémica (a través del aumento de la actividad de las células NK citotóxicas, por ejemplo) y la producción de moléculas que neutralizan o bloquean mutágenos, o que pueden tener actividades antioxidantes.

Aunque la evidencia acerca de los efectos benéficos de los probióticos en la tumorigénesis humana son indirectos, se está acumulando una cantidad de información proveniente de modelos experimentales que sugieren que estos agentes pueden tener efectos antineoplásicos. La necesidad de practicar estudios cuidadosamente planificados y de largo plazo en seres humanos es evidente por sí misma, ya que estas bacterias pueden ser herramientas útiles en la prevención de las etapas más tempranas del comienzo de la evolución del cáncer.

Probióticos e infecciones respiratorias altas

Además de impactar positivamente el TD, los probióticos también pueden inducir cambios en órganos distantes. Alrededor de 15 ensayos clínicos han evaluado los efectos del consumo de mezclas de probióticos utilizando cepas de *Lactobacillus* o de *Bifidobacterium* o combinaciones de ambos en individuos afectados por episodios de resfrío común u otros tipos de infecciones respiratorias altas. En la mayoría de los estudios los probióticos no parecen afectar la incidencia de los episodios de resfrío, pero disminuyen la intensidad de la sintomatología respiratoria y su duración, además de disminuir, en algunos casos, el consumo de antibióticos asociado a estos cuadros y el ausentismo escolar o laboral.

Prebióticos

Concepto de prebióticos

La definición original propuesta por Gibson y Roberfroid en 1995 define los prebióticos como hidratos de carbono indigeribles que afectan de manera benéfica la salud del huésped, porque estimulan selectivamente el crecimiento o la actividad metabólica de una o más poblaciones de bacterias del colon, principalmente lactobacilos y bifidobacterias. En 2007 el FAO Technical Meeting on Prebiotics propuso una definición más general para incluir los nuevos prebióticos y poder reflejar de manera más precisa lo que se conoce en la actualidad acerca de la ecología de la MI: “Los prebióticos son componentes no viables de los alimentos que confieren un beneficio para la salud del huésped en asociación con la modulación de su microbiota”. Es interesante anotar que de acuerdo con esta nueva definición, componentes de la dieta que no son hidratos de carbono no digeribles también pueden ser considerados como prebióticos. Este es el caso, por ejemplo, de los nucleótidos y del glicomacropéptido de la leche humana, un compuesto derivado de la caseína, que son capaces de modular la microbiota del colon de los recién nacidos. El informe de la FAO establece que los prebióticos deben ser compuestos con grados de pureza compatible con los alimentos (no son fármacos) y que deben estar bien caracterizados desde el punto de vista de su composición química. Otro aspecto importante es que los efectos positivos sobre la salud deben provenir del impacto del prebiótico sobre la MI. El hecho, por ejemplo que un prebiótico determinado reduzca el índice glicémico no puede ser considerado como un efecto prebiótico.

Prebióticos en la leche humana

En la leche humana existe una variedad de oligosacáridos no digeribles en concentraciones que suman de 7 a 12 g/L, mucho más altas que las que se observan en la leche bovina, que sólo contiene

trazas de estos compuestos. Estos oligosacáridos son sintetizados en la glándula mamaria conjugando galactosa (Gal) y N-acetilgalactosamina (GlcNAC) con lactosa y con la incorporación de fucosa y ácido siálico, que determinan su clasificación como oligosacáridos neutros o ácidos y explican la gran variedad de estructuras químicas existentes (se han descrito más de 130 moléculas diferentes). La presencia de N-acetilglucosamina y de fucosa diferencia a los oligosacáridos de la leche humana de los galactooligosacáridos (GOS). Los oligosacáridos de la leche humana pueden ser considerados componentes prebióticos, ya que no son digeridos ni absorbidos en el intestino delgado y llegan al colon del lactante donde sufren procesos de fermentación. La fracción neutra de los oligosacáridos es un factor relevante en este proceso y contribuye al desarrollo de la MI rica en bifidobacterias característica de los lactantes amamantados. La fracción de oligosacáridos ácidos podría prevenir la adherencia de bacterias patógenas al epitelio del intestino, debido a que poseen estructuras químicas específicas análogas de los receptores presentes en la superficie de las células del huésped a las que se ligarían los enteropatógenos. Este bloqueo de la adherencia de los enteropatógenos produce su eliminación por las deposiciones e interviene en la prevención de episodios infecciosos.

Fuentes de prebióticos

Existe una considerable variedad de poli y oligosacáridos que se encuentran principalmente en vegetales consumidos tradicionalmente como parte de la dieta, en los que constituyen una reserva de energía. La quitina, que forma parte del exoesqueleto de los crustáceos, insectos y algunos hongos, es considerada como el polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa; es utilizada para producir quitosanos por desacetilación. Los prebióticos más usados en la elaboración de alimentos, incluyendo los infantiles, son los fructanos (inulina y fructooligosacáridos, FOS) y los GOS. Son considerados GRAS y sus efectos estimulantes sobre la sa-

lud han sido ampliamente evaluados. La inulina, por ejemplo, es una mezcla de polímeros formados por unidades de fructosa que se unen formando cadenas lineales con grados variables de polimerización; al inicio de la cadena hay generalmente una única unidad de glucosa que proviene de la molécula de sacarosa que inicia la estructura lineal. La inulina es obtenida de la raíz de la achicoria después de un proceso de extracción con agua caliente. En algunos alimentos puede ser usada como sustituto de la grasa, ya que mejora su textura y palatabilidad mientras que al mismo tiempo disminuye su densidad energética.

Más recientemente están comenzando a ser utilizados por la industria de alimentos nuevos prebióticos, naturales (oligosacáridos de la soya, almidones resistentes, etc.) o sintéticos (xilooligosacáridos, lactosacarosa, polidextrosa, lactulosa, etc.), muchos de los cuales han sido desarrollados en Japón, donde algunos están siendo comercializados. Sin embargo, es importante recalcar que muchos de estos nuevos compuestos han sido estudiados principalmente en sistemas *in vitro* y en modelos animales y que, por lo tanto, es necesario efectuar estudios clínicos para confirmar su inocuidad así como sus efectos saludables en los seres humanos.

Prebióticos y efectos antibacterianos

Los prebióticos podrían ejercer efectos antibacterianos a través de los AGVs liberados durante los procesos de fermentación, que disminuyen el pH del lumen del colon e inhiben el crecimiento de los patógenos. Las poblaciones bacterianas cuyo crecimiento ha sido estimulado por los prebióticos también pueden inhibir la adherencia de los enteropatógenos a las células epiteliales, así como su crecimiento, fenómeno que ha sido observado *in vitro* para *E. coli*, *Campylobacter*, *Shigella* y *Salmonella* spp. Tomando como base estas observaciones se ha sugerido que el consumo de prebióticos podría disminuir el riesgo de desarrollar diarrea infecciosa. Sin embargo, hay pocos estudios que hayan confirmado

estos resultados en seres humanos. Los prebióticos pueden contribuir también a la restauración de la homeostasis de la microbiota intestinal cuando esta es alterada, por ejemplo, por la administración de antibióticos.

Los prebióticos y el riesgo de cáncer del colon

La fibra dietética ha sido considerada un factor que participa en la protección frente al desarrollo del cáncer colorectal. En modelos animales de tumorigénesis colónica, inducida en ratas mediante la administración de azoximetano, la administración de oligofructosa (10%) en la dieta disminuyó el número de criptas aberrantes en el epitelio del colon y su evolución hacia tumores malignos. Por otra parte, se ha demostrado que los FOS y GOS inhiben en el colon la expresión de actividades procarcinogénicas de origen bacteriano, tales como la beta-glucuronidasa, la nitroreductasa y la azoreductasa. No se ha aclarado si estos efectos se deben a la inhibición directa de estas actividades por los prebióticos o si esto se debe al aumento de los recuentos de bifidobacterias y lactobacilos y/o a la disminución de otras poblaciones de bacterias, tales como aquellas pertenecientes al género *Clostridium*. Otro aspecto importante, que contribuye a la disminución del riesgo de CCR, es la concentración cecal de butirato. Este AGV es importante en el mantenimiento de un epitelio colónico saludable debido a que es la principal fuente de energía para los colonocitos y favorece su diferenciación y apoptosis, lo que trae como resultado la eliminación de células potencialmente cancerosas.

Los prebióticos y la disponibilidad de minerales

La ingesta de cantidades adecuadas de calcio y magnesio es fundamental para el mantenimiento de la salud ósea y la prevención de la osteoporosis. La adición de GOS a la dieta de ratas aumenta la absorción

de estos minerales, en tanto que este efecto disminuye cuando se les administra simultáneamente neomicina, lo que sugiere que la MI juega un papel en este proceso. La administración de FOS a animales gastrectomizados, que normalmente sufren disminuciones de la absorción de calcio, estimula la expresión de calbindina en la mucosa del colon y aumenta la retención de calcio en el esqueleto. Este fenómeno podría ser explicado por el hecho que la fermentación de los prebióticos disminuye el pH en el lumen colónico y esto aumenta la solubilidad del calcio y el magnesio así como su biodisponibilidad. Los estudios en seres humanos han arrojado resultados contradictorios, posiblemente debido a diferencias entre las dosis de prebióticos, el momento en que estos son ingeridos, el contenido de calcio de la dieta, el segmento del esqueleto que es sometido a evaluación y, por último, a la edad de los sujetos. El consumo diario de FOS por mujeres postmenopáusicas aumenta la absorción fraccional de calcio en comparación con el placebo. La formación de hueso, evaluada a través de la concentración de osteocalcina sérica, aumenta después de seis semanas de tratamiento con FOS; este proceso, aunque no considerable, revierte el balance negativo de calcio en mujeres postmenopáusicas y hombres mayores de 65 años, disminuyendo el riesgo de osteoporosis en ausencia de una ingesta adecuada de calcio. Un aspecto interesante es que se observaron resultados similares en adolescentes.

Los prebióticos y la regulación de los lípidos sanguíneos

Los altos niveles de triglicéridos y colesterol plasmáticos, además de la obesidad abdominal, la hipertensión arterial y la resistencia a la insulina son componentes importantes del síndrome metabólico, una patología asociada con un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares. Estudios en humanos y en animales indican que el consumo de prebióticos podría disminuir los triglicéridos y el colesterol plasmáticos. Para explicar estos efectos se han pro-

puesto diversos mecanismos. Algunos prebióticos, como los β -glucanos de la avena, cuando están presentes en soluciones acuosas, forman geles viscosos que por una parte hacen más lento el vaciamiento gástrico y por otra parte interfieren en la interacción entre las enzimas pancreáticas (lipasa, amilasa) y sus substratos (triglicéridos, almidón) en el lumen intestinal. Sin embargo, este efecto no debería ser considerado prebiótico, ya que es independiente de la modulación de la MI.

Como se manifestó anteriormente, la fermentación de los prebióticos en el colon produce grandes cantidades de AGVs, principalmente acetato, propionato y butirato. Una vez absorbidos por la mucosa del colon, el acetato y el propionato llegan al aparato circulatorio y son transportados al hígado. En este órgano el acetato puede ser utilizado como sustrato para la síntesis de triglicéridos y colesterol, en tanto que el propionato tiende a inhibir la expresión génica de las enzimas que participan en la síntesis de estas moléculas lipídicas. La mayor parte de los estudios que han evaluado los efectos de los prebióticos sobre los lípidos sanguíneos, han sido realizados utilizando inulina y oligofruktosa. Aunque en los animales de experimentación se han observado efectos convincentes sobre el descenso de los niveles de lípidos, en estos casos los prebióticos han sido utilizados en dosis elevadas. Los resultados obtenidos en humanos son más contradictorios; mientras que algunos de ellos no muestran efectos de los fructanos sobre los lípidos séricos de individuos normolipidémicos, otros han demostrado disminuciones de la trigliceridemia con cambios moderados de los niveles séricos de colesterol total y LDL; en los sujetos hiperlipidémicos el principal efecto es el descenso del colesterol.

Los prebióticos y la regulación del consumo de alimentos

La obesidad constituye un importante problema de salud pública a nivel mundial, ya que es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas

como la diabetes tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares. Uno de los aspectos más interesantes y novedosos de los prebióticos es su capacidad de modular el consumo de alimentos. La administración de una dieta enriquecida con oligofruktosa (10%) a ratas, disminuye la liberación de grelina por las células enteroendocrinas de la mucosa gástrica y aumenta la de la incretina GLP-1 (glucagon-like peptide-1) y del Péptido YY por las células enteroendocrinas L del epitelio del íleon distal y el colon proximal. Los AGVs producidos por la fermentación de la oligofruktosa aumentan el número de células enteroendocrinas L mediante la inducción de los factores de diferenciación neurogenina-3 y NeuroD14. Ambas hormonas ejercen efectos anorexigénicos a nivel del sistema nervioso central, disminuyendo el consumo de alimentos y la consiguiente ganancia de peso. El consumo de este prebiótico mejora también la glicemia y la insulinemia en ayunas de ratas diabéticas, además de inhibir el apetito de animales alimentados con una dieta alta en grasa. En voluntarios sanos, el consumo de oligofruktosa aumenta las concentraciones plasmáticas de GLP-1 y de PYY y disminuye los niveles de grelina circulante, además de disminuir la sensación de hambre y el aumento postprandial de glicemia observados en estos sujetos. Estos resultados sugieren que la incorporación de prebióticos a la dieta puede ser una estrategia interesante para controlar el apetito.

Los prebióticos, el tránsito intestinal y la constipación

La constipación es un problema que afecta tanto a niños como adultos y su prevalencia es aún más alta en los ancianos. La composición de la MI está alterada en los sujetos con constipación y dichas alteraciones pueden afectar la motilidad intestinal. Los AGVs producidos por los procesos de fermentación (en los que participan las bifidobacterias) tienen efectos importantes sobre el tránsito intestinal; en efecto, en el músculo liso de la pared colónica existen receptores específicos que pueden ser estimula-

dos por estos AGVs, aumentando el peristaltismo y disminuyendo el tiempo de tránsito. Como resultado se ha propuesto que los prebióticos podrían ser útiles en el manejo dietético de la constipación. Es interesante recalcar que la lactulosa, un compuesto ampliamente usado como laxante, es también un prebiótico ya que no es digerible en el intestino delgado y puede ser utilizada como sustrato para estimular el crecimiento de bifidobacterias en el colon. Otros probióticos, como el lactitol, los GOS y FOS han demostrado ser efectivos en el tratamiento de la constipación de los ancianos. La incorporación de mezclas de GOS/FOS a las fórmulas infantiles, induce en los niños la evacuación de deposiciones más blandas.

Referencias

1. Abraham C, Medzhitov R. Interactions between the host innate immune system and microbes in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2011; 140: 1729-37.
2. Betsi GI, Papadavid E, Falagas ME. Probiotics for the treatment or prevention of atopic dermatitis: a review of the evidence from randomized controlled trials. *Am J Clin Dermatol* 2008; 9: 93-103
3. Broekaert WF, Courtin CM, Verbeke K, Van de Wiele T, Verstraete W, Delcour JA. Prebiotic and other health-related effects of cereal-derived arabinoxylans, arabinoxylan-oligosaccharides, and xylooligosaccharides. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2011; 51: 178-94.
4. Brunser O, Gotteland M, Cruchet S. Functional fermented milk products. In: Agostini C, Brunser O., editors. *Issues in complementary feeding*. Basel: Nestec Ltd., Vevey/S. Karger; 2007 Nestlé Nutrition Workshop Series Pediatric Program; Vol 60. p. 235-50.

5. Brunser O, Gotteland M. Prebiotics and probiotics in human health: an overview. In "Bioactive foods in health promotion: probiotics and prebiotic." Watson R and Preedy V, Ed. Academic press, Kidlington, UK, 2010.
6. Caceres P, Gotteland M. Alimentos probióticos en Chile ¿Qué cepas y que propiedades? Rev Chil Nutr 2010; 37: 97-109.
7. Caplan MS. Probiotic and prebiotic supplementation for the prevention of neonatal necrotizing enterocolitis. J Perinatol 2009; 29 Suppl 2: S2-6.
8. Chmielewska A, Szajewska H. Systematic review of randomised controlled trials: probiotics for functional constipation. World J Gastroenterol 2010; 16: 69-75.
9. Gotteland M, Andrews M, Toledo M, Muñoz L, Caceres P, Anziani A, Wittig E, Speisky H, Salazar G. Modulation of *Helicobacter pylori* colonization with cranberry juice and *Lactobacillus johnsonii* La1 in children. Nutrition 2008; 24: 421-6.
10. Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? Aliment Pharmacol Ther 2006; 23: 1077-86.
11. Gotteland M, Cruchet S, Brunser O. Functional foods in child nutrition. In "Functional food development". Smith J and Charter E, Ed. Wiley Intersciences, Oxford, UK, 2010.
12. Gotteland M, Vizcarra M, Maury E. Efecto de un producto lácteo con probióticos y prebióticos sobre la función digestiva de sujetos sanos y constipados. Rev Chil Nutr 2010; 37: 340-51.
13. Maloy KJ, Powrie F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. Nature 2011; 474: 298-306.
14. Morales P, Brignardello J, Gotteland M. La microbiota intestinal: un nuevo actor en el desarrollo de la obesidad. Rev Med Chile 2010; 138: 1007-14.
15. Murgas Torrazza R, Neu J. The developing intestinal microbiome and its relationship to health and disease in the neonate. J Perinatol 2011; 31 Suppl 1:S29-34.
16. Musso G, Gambino R, Cassader M. Interactions between gut microbiota and host metabolism predisposing to obesity and diabetes. Annu Rev Med 2011; 62: 361-80.
17. Preidis GA, Hill C, Guerrant RL, Ramakrishna BS, Tannock GW, Versalovic J. Probiotics, enteric and diarrheal diseases, and global health. Gastroenterology 2011; 140: 8-14.
18. Seksik P, Dray X, Sokol H, Marteau P. Is there any place for alimentary probiotics, prebiotics or synbiotics, for patients with inflammatory bowel disease? Mol. Nutr. Food Res 2008; 52: 906 – 912.
19. Tilg H, Kaser A. Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. J Clin Invest. 2011; 121: 2126-32.
20. Venugopalan V, Shriner KA, Wong-Beringer A. Regulatory oversight and safety of probiotic use. Emerg Infect Dis 2010; 16: 1661-5.
21. Vouloumanou EK, Makrisa GC, Karageorgopoulou DE, Falagas ME. Probiotics for the prevention of respiratory tract infections: a systematic review. Int J Antimicrob Agents 2009; 34: 197-206.
22. Zhu Y, Michelle Luo T, Jobin C, Young HA. Gut microbiota and probiotics in colon tumorigenesis. Cancer Lett 2011; 309: 119-27.

Inmunidad de la mucosa gastrointestinal

Lei Lu, W. Allan Walker

El tracto gastrointestinal es el principal órgano a cargo de la absorción de agua y nutrientes; al mismo tiempo constituye la principal barrera entre el entorno estéril del organismo y el mundo exterior. A nivel de la mucosa intestinal, esto resulta en la formación de uno de los órganos más voluminosos del sistema inmune, que funciona para modular la vigilancia de microorganismos patógenos, la captación de antígenos, la inducción de la inmunidad de mucosas y la tolerancia. El desarrollo de este complejo sistema inmune comienza *in útero*, controlado por un programa endógeno/intrínseco establecido genéticamente. Sin embargo, en la regulación de la expresión de los genes también participan múltiples señales provenientes del ambiente. Después del nacimiento, la maduración intestinal es regulada tanto por el programa genético intrínseco, por hormonas y factores de crecimiento circulantes como por la exposición a los antígenos de los alimentos y por la colonización por una microbiota comensal normal. En este capítulo se revisará los avances más recientes en la ontogenia de la inmunidad de la mucosa del tracto gastrointestinal humano.

El comienzo: desarrollo fetal del sistema inmune de la mucosa del tracto gastrointestinal

Las células epiteliales intestinales

El epitelio intestinal participa en las respuestas inmunes locales a través de una variedad de funciones constitutivas e inducibles de tipo innato, pero cum-

pliando principalmente funciones de barrera física con el fin de mantener la integridad de la superficie. En los seres humanos la polarización de los enterocitos inmaduros se produce aproximadamente en la semana 9 de la gestación y en la semana 10 estas células se organizan en una monocapa que se vuelve impermeable porque aparecen las uniones estrechas (tight junctions) (1). Las uniones estrechas constituyen el sustrato de las uniones entre las células epiteliales intestinales, de su morfogénesis como células prismáticas y de su polarización (2); las uniones estrechas transforman a los enterocitos en una barrera selectiva y producen la separación de los lípidos y las proteínas propias de la membrana celular apical, de aquellos presentes en su membrana basolateral (3).

El epitelio intestinal participa en la defensa de la mucosa a través de mecanismos tales como la vigilancia de la calidad del ambiente del lumen y la expresión de sistemas defensivos constitutivos e inducibles y participa además en las etapas iniciales de las respuestas inmunes adaptativas, tales como la presentación antigénica. Por otra parte, las células del epitelio producen factores que promueven la activación o la inhibición de células profesionales específicas del sistema inmune (4). La mayor parte de los tipos de células epiteliales que participan en las funciones inmunes del tracto gastrointestinal de los adultos ya están expresadas en las etapas tempranas del desarrollo. En el segundo trimestre de la gestación, la diferenciación de las células epiteliales especializadas ya está completa. Esto incluye la

aparición de las células caliciformes (semana 8) y su expresión del gen *muc2* (semana 12) que resulta en la producción de mucus, un importante mecanismo constitutivo de defensa (5, 6); las células de Paneth aparecen en la semana 12 de la gestación (7) junto con la expresión de una variedad de moléculas antimicrobianas tales como la α -defensina (en la semana 13) (8), la lisozima (semana 20) y niveles bajos del factor de necrosis tumoral (TNF)- α .

Otra función importante que cumplen las células epiteliales en relación con la inmunidad es la secreción de inmunoglobulinas (Ig) a través de la barrera epitelial. El epitelio intestinal tiene la capacidad de secretar IgA e IgM poliméricas mediante la expresión del receptor de inmunoglobulina polimérica (pIgR). El pIgR se une a la cadena J de las Ig poliméricas a nivel de la membrana basolateral del epitelio y es transportado al lumen intestinal donde se produce su partición, que produce un péptido llamado componente secretorio (SC), que permanece unido a la Ig secretoria y a la cadena J (9). Aunque la secreción activa de IgA sólo aparece después del nacimiento, la expresión temprana del SC y de la cadena J por las células epiteliales intestinales (en la 4ª semana) explica la aparición de niveles bajos de inmunoglobulina (Ig) en el líquido amniótico. Además, las células del epitelio intestinal expresan a nivel del ribete estriado un receptor Fc neonatal (FcRn) que participa en la transferencia de Ig a través de la barrera epitelial. La expresión de FcRn en el intestino comienza en la semana 18 de gestación (10) y persiste a lo largo de la niñez y durante la edad adulta.

Componentes celulares del sistema inmune de las mucosas (Tabla 1)

1. El sistema inmune innato

El sistema inmune innato está formado por las células y mecanismos que son activados en forma automática por el huésped como respuesta rápida frente a infecciones y no es específico para los antígenos.

Macrófagos

Los macrófagos son las principales células fagocitarias residentes del tubo digestivo. Están dispersos en el corion de la mucosa y también agrupados en las placas de Peyer (11, 12). Aunque es posible detectar macrófagos en el intestino fetal humano a partir de la 12ª semana de la gestación, su fenotipo difiere dependiendo de la edad de gestación y de su localización (13). Observaciones recientes han mostrado que en los embriones humanos la ontogenia de los macrófagos es diferente del proceso que ocurre durante la edad adulta. Por ejemplo, los macrófagos de la lámina propia de la mucosa intestinal fetal no expresan en su superficie CD14, un co-receptor indispensable para el funcionamiento del Toll-like receptor (TLR) 4 y por lo tanto, responden escasamente al lipopolisacárido (LPS) (14).

Células dendríticas

Las células dendríticas son procesadoras de antígenos y tienen un papel muy importante en la presentación de antígenos. Sirven de enlace entre los sistemas de inmunidad innata y adaptativa. Su ontogenia no ha sido explorada detalladamente. Aparecen aproximadamente al mismo tiempo que los macrófagos y su distribución es semejante.

Células cebadas

Las células cebadas, que residen en la lámina propia de la mucosa, están íntimamente asociadas con la defensa contra los patógenos y con la cicatrización de las heridas; también están asociadas con las reacciones alérgicas y la inflamación a través del reclutamiento de neutrófilos y macrófagos. No se dispone de información precisa acerca de su ontogenia.

2. El sistema inmune adaptativo

El sistema inmune adaptativo está formado por células sistémicas altamente especializadas y por procesos que previenen o inhiben a los patógenos mediante reacciones antígeno-específicas para dichos patógenos. Una de las características de las respuestas inmunes adaptativas es el desarrollo de una me-

moria inmunológica. La mucosa intestinal fetal posee todos los componentes importantes del repertorio de células que componen el sistema inmune adaptativo. En etapas tempranas de la gestación, en la 10^a - 11^a semana, se puede observar la presencia de placas de Peyer rudimentarias y de folículos linfoides cuyas células expresan HLA-DR⁺ y CD4⁺. A las 16 - 18 semanas se detectan células B CD5⁺ e IgA⁺ en las placas de Peyer; también es posible detectar linfocitos T

CD7⁺CD3⁺ en las placas de Peyer, en la superficie del epitelio y en la lámina propia de la mucosa. Alrededor de la semana 16 se observan ocasionalmente linfocitos intraepiteliales (IELs) que son primariamente del tipo $\gamma\delta$ y cuyos marcadores son CD3⁺CD8⁺. En el corion de la mucosa intestinal fetal se detecta fácilmente la presencia de linfocitos T, pero la mayoría de ellos está agrupada en agregados linfoides (15). En los seres humanos el desarrollo de las células B

Tipo	Antígeno de superficie	Localización	Edad fetal (semanas)
Célula T (Célula T γ/δ)	CD7 ⁺ CD3 ⁺ CD3 ⁺ CD8 ⁺	IEL Linfocitos intraepiteliales	11-12
Célula T	HLA-DR ⁺ , CD4 ⁺	PP (Placa de Peyer)	10-11
Célula B	CD5 ⁺ , IgA ⁺ CD19 ⁺	PP	16-18
Célula hematopoyética	CD4 ⁺ CD3 ⁻ LTa2b1 ⁺ IL7R ⁺ , CXCR5 ⁺	PP	11
Célula M		PP	16-18
Célula T ($\alpha\beta$) Célula B Célula dendrítica IEL	CD4 ⁺ (10%) CD8 ⁺ (3%) B2, IgA ⁺ (70%) CD11c ⁺ (10%) IL7R ⁺ ckit ⁺ (15%)	ILF (Folículos linfáticos solitarios)	
Célula T ($\alpha\beta$) Célula dendrítica Macrófagos		LP (lámina propia)	16-18 11-12 11-12

Tabla 1. Componentes del sistema linfóide del tubo digestivo.

comienza tempranamente en la vida fetal. Aunque ha sido posible identificar células precursoras de los linfocitos B, específicamente las células pre-B, en muchos tejidos fetales se han observado células B maduras en el timo a partir de la 15ª semana y en el intestino fetal a partir de la semana 14. A las 16 semanas de vida fetal se observan en la lámina propia de la mucosa células B que forman agregados junto con células T; las células B, también están presentes como elementos aislados (16).

3. El tejido linfático asociado con el tubo digestivo

El tejido linfoide asociado con el tubo digestivo (Gut Associated Lymphoid Tissue, GALT) es una de las barreras protectoras más importantes en relación con el medio ambiente. A las 12 semanas de gestación las células linfoides están distribuidas de acuerdo con un patrón regional que da origen a los precursores del tejido linfoide organizado del tracto gastrointestinal (O-GALT). Al mismo tiempo, se comienzan a observar en la lámina propia de la mucosa intestinal y el compartimiento intraepitelial células linfoides aisladas. Consideradas en conjunto estas últimas forman el GALT difuso (D-GALT) (4).

La formación del O-GALT es el producto de intercambios de información entre las células hematopoyéticas linfoides y las células del estroma, proceso que estimula la producción de quimioquinas con especificidad regional; estas quimioquinas inducen secuencias de etapas en el reclutamiento de células y dan origen a un órgano linfoide secundario (17). Las células del estroma que expresan la molécula de adhesión de las células vasculares-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) y la molécula de adhesión intercelular (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) comienzan a formar agregados en la mucosa. Estos agregados son los primeros esbozos de las placas de Peyer (PP). La formación de las PP comienza en el extremo proximal del intestino y progresa hacia el extremo distal; las PP aparecen y se organizan antes de la aparición de las células hematopoyéticas. En el ratón, las células

linfoides colonizan las PP rudimentarias en el día 15,5 de la embriogénesis (E15,5), se agrupan con células VCAM1⁺/ICAM1⁺ del estroma y comienzan a establecer contactos célula-célula en los cuales juega un papel crítico la interacción entre la linfotóxina β (LTα2β1) y el receptor β de la linfotóxina (LTβR). La formación precoz de estos agregados de células VCAM1⁺ puede ser inhibida si durante la embriogénesis se bloquean las vías de señalización correspondientes a IL-7R o de LTβR. El fenotipo de las células hematopoyéticas que forman agregados con VCAM1⁺ e ICAM1⁺ es CD4⁺ CD3⁻ LTα2β1⁺IL7R⁺ y tienen la capacidad de estimular la expresión de las quimioquinas CXCL13 en las células del estroma, las que a su vez reclutan células hematopoyéticas que tienen el receptor CXCR5⁺ (18). La organización de las zonas pobladas por las células B y T y la aparición de las células dendríticas ocurre en las PP después del nacimiento (19).

Sin embargo, en el ser humano el antígeno leucocitario HLA-DR⁺CD4⁺ aparece durante la semana 11 de la gestación y los linfocitos T CD3⁺ y los linfocitos B CD19⁺ son detectables después de la semana 16 (19). Por lo tanto, la llegada de linfocitos maduros y el establecimiento del compartimiento que representan las PP se produce tempranamente en la gestación. Durante la semana 19 se diferencian folículos formados por células B que contienen además células dendríticas (DCs) foliculares, en tanto que las células T ocupan los espacios interfoliculares (20). Sin embargo, los folículos secundarios, con centros germinativos que denotan la activación de las células B, sólo se forman después del nacimiento, lo que sugiere que en este proceso existiría una dependencia de estímulos exógenos.

El desarrollo progresivo de los compartimientos linfoides en las PP influye en la diferenciación de las células epiteliales y del estroma. Durante la vida fetal, bajo la influencia de las células inmunes subyacentes, se establecen en las PP las características específicas del epitelio asociado con los folículos (EAF) (4). El EAF está presente en todo el intestino delgado y está más concentrado en el íleon. Al compararlo con el epitelio que reviste las vellosidades se

hacen evidentes numerosas diferencias: las células del EAF forman vellosidades más cortas y su velocidad de reproducción es más lenta; además, este epitelio incluye pocas células caliciformes y de Paneth. En cambio, el EAF incluye mayoritariamente enterocitos de forma aproximadamente cúbica y sus patrones de expresión génica son diferentes de aquellos detectables en los enterocitos de las vellosidades, lo que hace que sus niveles de expresión de las hidrolasas digestivas y de las enzimas del ribete estriado sean más bajos (21). Estas características garantizan el ingreso de antígenos inalterados al EAF. Además, el EAF incluye un tipo especializado de célula, denominado célula M (por microfold). Las células M aparecen en la semana 17 del embarazo y son elementos epiteliales dedicados a la captación endocítica de antígenos mediante la facilitación de la transcitosis de materiales que pasan desde su ápice, orientado hacia el lumen intestinal, a la zona basolateral. Estas células tienen la capacidad de incorporar por endocitosis antígenos solubles o bacterias presentes en el lumen del intestino y juegan un papel crítico en la transferencia de patógenos a través de la barrera epitelial y hacia el tejido conectivo, que subyace al epitelio en la cúpula de las PPs, donde son incorporados por endocitosis para ser muestreados por las DCs o, por el contrario, destruidos por los macrófagos (22).

Otra característica distintiva del EAF es la producción de las quimioquinas CCL20, que ejercen un papel crucial en el reclutamiento de DCs inmaduras hacia la región de la cúpula subepitelial, una estructura que coloca a la maquinaria a cargo de la presentación de antígenos en las vecindades de las células M, presentes en el lugar donde se produce el muestreo de antígenos (23). De manera que la producción de quimioquinas por el EAF, junto con el desarrollo temprano de su capacidad para obtener muestras de antígenos desde el lumen del tubo digestivo, posibilitan que se produzcan respuestas adecuadas ante los antígenos que comienzan a llegar al lumen del intestino después del nacimiento.

El desarrollo de la barrera inmune a nivel de la mucosa intestinal durante la vida postnatal, representa

una protección importante de tipo adaptativo. Durante el desarrollo fetal un programa genético intrínseco ha construido en el intestino un complejo sistema formado por mecanismos estructurales e inmunitarios que dan origen a la red de procesos integrados, que componen el sistema inmune de la mucosa. La Figura 1 ilustra la ontogenia del sistema inmune de la mucosa del ser humano a nivel del tracto gastrointestinal (24). Sin embargo, el desarrollo de un sistema inmune funcional a nivel de la mucosa después del nacimiento requiere estímulos ambientales.

La maduración extrínseca del sistema inmune de la mucosa a nivel del tracto gastrointestinal

Las respuestas a los estímulos provenientes del medio ambiente

Durante la vida fetal el sistema inmune de la mucosa del tracto gastrointestinal se desarrolla en un ambiente estéril y en ausencia de estímulos con capacidad antigénica. En los mamíferos, la inmadurez funcional del sistema inmune del recién nacido requiere una educación adecuada para que se pueda desarrollar una respuesta adecuada frente a los patógenos, pero asegurando al mismo tiempo el desarrollo de tolerancia frente a los antígenos de los alimentos y la microbiota comensal. El programa genético de desarrollo del sistema inmune de la mucosa está sometido a influencias de tipo epigenético provenientes del lumen intestinal, tanto durante el período prenatal como el postnatal. Las tres principales fuentes extrínsecas de señales reguladoras son el líquido amniótico, la leche materna y la microflora intestinal.

El líquido amniótico

A partir de la semana 16 del desarrollo fetal el epitelio intestinal queda expuesto al líquido amniótico, que contiene una amplia gama de moléculas bio-

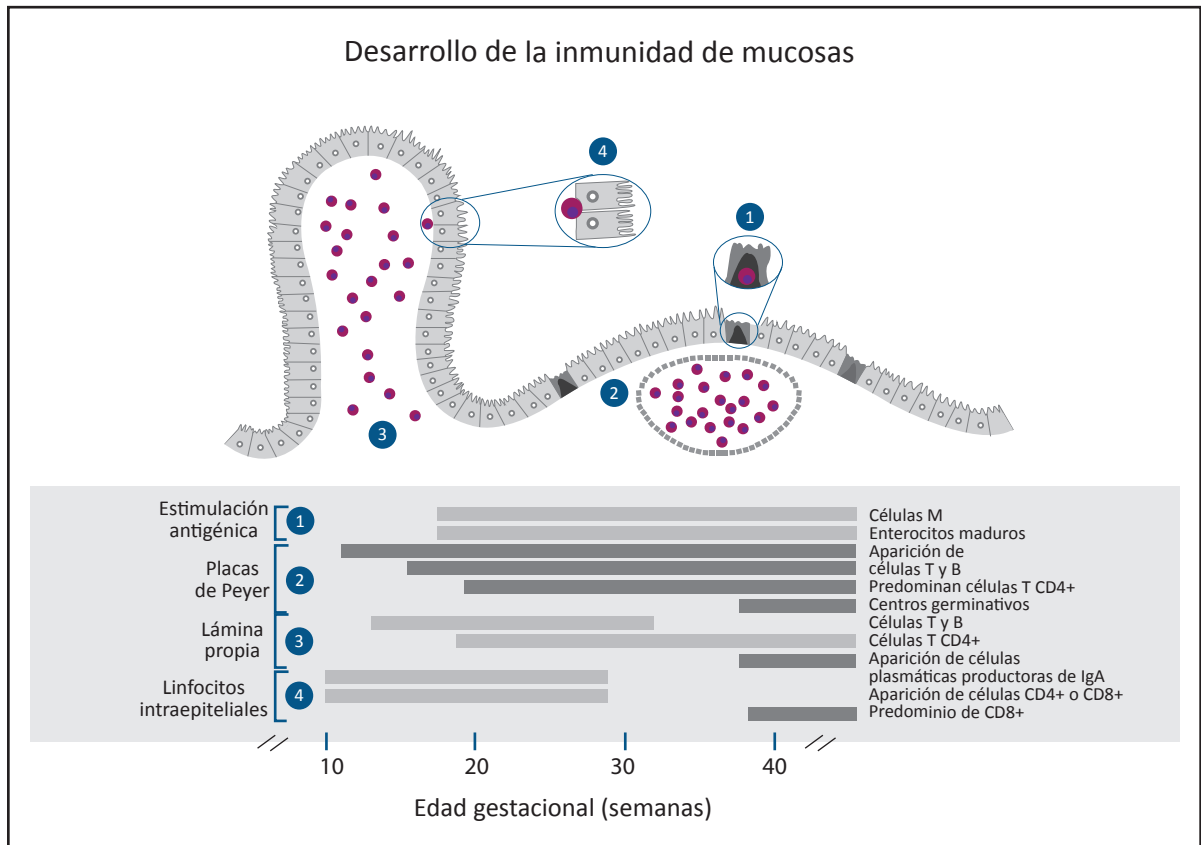


Figura 1. Ontogenia del sistema inmune humano. Ilustra los principales componentes del sistema inmune de las mucosas. Se enfatizan los tiempos correspondientes al desarrollo de los componentes claves. Nótese los centros germinativos de las placas de Peyer. Las células plasmáticas productoras de IgA en la lámina propia y los linfocitos intraepiteliales CD8⁺ no aparecen hasta el período perinatal y neonatal.

lógicamente activas que ejercen diferentes funciones y cuyas concentraciones varían a lo largo de la gestación. La morfogénesis y el desarrollo funcional de la mucosa intestinal son regulados por moléculas presentes en el líquido, tales como los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) -1 y 2, el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y el factor de transformación del crecimiento (TGF)- β (TGF- β). El TGF- β cumple múltiples funciones y tiene importancia central en la morfogénesis del epitelio así como en la modulación de las respuestas inmunes (4). El líquido amniótico también contiene un gran número

de citoquinas y quimioquinas, tales como las IL-6, 8, 10, 11, 12 y 15, además de TNF- α . Estas moléculas juegan un papel importante porque modulan funciones inmunitarias y/o el reclutamiento y la maduración de las CDs (4).

La leche materna

El epitelio intestinal maduro expresa en su superficie moléculas y citoquinas que coordinan la reactividad inmune de la mucosa intestinal. Sin embargo, en el momento de nacer los IELs todavía no están enteramente desarrollados. De manera que el recién na-

cido requiere un intervalo definido de tiempo para poder desarrollar tanto la compleja comunidad de bacterias que se alojan en su intestino grueso como un sistema inmune intestinal maduro. Durante este período los recién nacidos son vulnerables frente a potenciales patógenos que puedan ingresar a su tracto gastrointestinal. El calostro y la leche materna proporcionan la protección inicial frente a los patógenos invasores porque contienen anticuerpos y otros componentes bioactivos. De esta manera la leche materna juega un papel doble: en primer lugar, proporciona funciones defensivas antimicrobianas y, en segundo lugar, aporta factores de crecimiento y moléculas inmunomoduladoras y antiinflamatorias, que promueven el desarrollo activo de la protección inmune neonatal y el proceso de instrucción a estos sistemas (25). En relación con estas actividades, la leche materna contiene moléculas con actividad biológica idénticas a otras que estaban presentes en el líquido amniótico.

La leche materna también contiene otras moléculas con actividad biológica tales como la lactoferrina y la lactoferricina, que tienen la capacidad de depletar de hierro al lumen intestinal; el hierro es un elemento necesario para el crecimiento de las bacterias y a través de este mecanismo de secuestro se previene la proliferación de patógenos. Adicionalmente, la leche materna contiene concentraciones elevadas de lisozima, de IgA secretoria (IgAs), de oligosacáridos y mucinas lácticas. Estos factores tienen ya sea actividad bactericida o previenen la adherencia y la invasión por patógenos. Estudios recientes también aportan evidencia de que la leche materna contiene receptores solubles para el reconocimiento de patógenos (PRRs, pattern recognition receptors, soluble), tales como CD14 soluble y el receptor soluble del Toll-like receptor-2 (TLR-2). La relevancia funcional de estas moléculas para la defensa del intestino del huésped recién nacido no se conoce con certeza; podrían jugar, por ejemplo, el papel de centinelas que advierten al epitelio inmaduro acerca de la presencia de patógenos, participarían en la promoción de la respuesta innata o en la prevención de una reacción epitelial frente a productos bacterianos (4).

La leche materna, al igual que el líquido amniótico, contiene niveles altos de factores tróficos tales como el factor de crecimiento epitelial (EGF), cortisol, poliaminas y TGF- β , que promueven la maduración de los IEL, potencian la función de barrera del epitelio y previenen la translocación bacteriana (4). Tanto en la etapa prenatal como en la neonatal es necesaria la interacción entre el contenido intestinal y los IEL de la superficie luminal del epitelio para asegurar el establecimiento de un balance homeostático que preserve la integridad de la mucosa intestinal. El período neonatal es una etapa precaria para la defensa de la mucosa y para la generación de potenciales condicionamientos anormales por antígenos (primings), porque la barrera epitelial y la red de mecanismos inmunorreguladores están desarrollados en forma incompleta. La exposición del intestino neonatal a antígenos en condiciones y en el momento apropiado son aspectos cruciales para el desarrollo de las respuestas inmunes adecuadas tanto a nivel local, en el intestino, como a nivel sistémico. Esto incluye la colonización del intestino por bacterias del canal de parto y la piel materna, la provisión de factores de tipo inmune a través de la leche materna y la exposición a bacterias provenientes del medio ambiente.

Calidad de las respuestas inmunes a los microorganismos

Existe considerable evidencia que implica a la microbiota del intestino humano como el factor postnatal de origen ambiental más importante que participa en el proceso de educación de la inmunidad de mucosas. La microbiota intestinal influye de manera importante en la expresión de genes en el tubo digestivo. La expresión de los genes de las células epiteliales intestinales es influenciada especialmente por las bacterias que participan en la colonización inicial después del parto e involucra a genes que contribuyen a la potenciación de las funciones de barrera, la secreción de inmunoglobulinas, las funciones digestivas y las actividades antimicrobianas. Las bacterias comensales no son ignoradas por el

huésped sino que son reconocidas inicialmente por los PRRs, expresados en las células epiteliales intestinales, y por células inmunes tales como los macrófagos presentes en lámina propia de la mucosa. La forma en que se produce este reconocimiento mutuo puede establecer las bases para la tolerancia frente a las bacterias comensales o, por el contrario, puede establecer una relación conflictiva con estos agentes, que puede determinar la aparición de las enfermedades inflamatorias intestinales.

El período neonatal es crucial para la adquisición de la microbiota endógena, que establece los lazos que unen a la microbiota comensal humana con el desarrollo del sistema inmunológico y sus funciones, así como con las consecuencias potenciales de las interrelaciones bacteria-huésped con la salud en las primeras etapas de la vida. Por otra parte, el período neonatal también está asociado con la alta sensibilidad a agentes infecciosos y con el desarrollo de respuestas inmunes innatas exageradas. La existencia de desbalances entre la microbiota y las defensas de su huésped puede estimular una amplia gama de alteraciones inmunes tanto a nivel local, en las mucosas, como a nivel sistémico, entre las que se incluyen la enterocolitis necrotizante neonatal (ECN), las enfermedades inflamatorias del tubo digestivo y otros tipos de cuadros autoinmunes y alérgicos. Sin embargo, las bacterias comensales interactuarán con los PRR de las células epiteliales intestinales, contribuyendo a instalar respuestas epiteliales protectoras y promoviendo la integridad de la barrera, así como su reparación eficaz (26).

Etapas precoces de la colonización del tracto gastrointestinal

La colonización del tracto gastrointestinal neonatal es un proceso complejo y dinámico que es influido por múltiples factores provenientes del ambiente, tales como la alimentación temprana y sus nutrientes. El intestino fetal de los mamíferos está estéril antes del nacimiento y la primera exposición a la microbiota materna ocurre durante su paso a través del canal vaginal, en el transcurso del parto. La mi-

crobiota que coloniza inicialmente al recién nacido es heterogénea; cuando nacen por parto vaginal y son alimentados con leche materna, la microbiota de los recién nacidos está representada principalmente por bifidobacterias, junto con números bajos de *E. coli*, *Bacteroides* y clostridias (27). Existe evidencia de que algunas especies de bacterias, tales como las bifidobacterias y los *Bacteroides*, pueden disminuir los efectos proinflamatorios de las enterobacteriáceas (28). La colonización del lumen por estos microorganismos está bajo un estrecho control proveniente de la vía del parto y del amamantamiento precoz. Existe también evidencia de que cuatro especies de clostridios, *C. paraputrificum*, *C. perfringens*, *C. tertium* y *C. difficile*, estarían presentes en números relativamente más altos en los lactantes alimentados con fórmulas o con dietas mixtas que en los amamantados (29). Esto apoya el concepto de que la composición de la microflora del tubo digestivo de los lactantes puede ser influida por el tipo de alimentación y por otros factores que incluyen la vía de nacimiento, la edad de gestación, el período durante el cual el recién nacido permanece hospitalizado y los tratamientos con antibióticos a los que pueda ser sometido.

La segunda sucesión importante de comunidades microbianas ocurre en el tubo digestivo durante el destete y con la introducción de los alimentos sólidos. La microflora intestinal se vuelve más diversificada e incluye especies de bacterias que son más frecuentes en el tubo digestivo de los adultos, como por ejemplo los Bacteroidetes y los Firmicutes (30). Existe creciente evidencia de que el GALT juega un papel en el establecimiento del repertorio de especies que integran la microbiota intestinal y que, viceversa, la microbiota modula el desarrollo del GALT. En los mamíferos jóvenes, el centro germinativo y las regiones corticales de los folículos linfáticos del GALT están subdesarrollados. El proceso de desarrollo depende de los estímulos originados por la presencia de microorganismos en el lumen intestinal así como de otros estímulos de origen exógeno, tales como el comienzo de la llegada de alimentos sólidos y la interrupción de la alimentación con leche mater-

na (31). La microbiota nativa no sólo representa un factor de resistencia a la colonización por bacterias potencialmente patógenas sino que tiene también un papel importante en la maduración del GALT, en el desarrollo de la inmunidad de las mucosas y en la inducción de la tolerancia oral. Estudios en animales gnotobióticos han demostrado que la presencia de números limitados de bacterias nativas puede influir sobre el sistema inmune del tracto gastrointestinal. La regulación de la composición de la microbiota del tracto gastrointestinal, por ejemplo mediante el uso de pre- o probióticos, ofrece la posibilidad de influir sobre el desarrollo de la inmunidad local y sistémica cuando éste fue el resultado de una colonización inicial disfuncional.

A medida que el lumen intestinal va siendo colonizado por poblaciones sucesivas de bacterias, éstas contribuyen significativamente tanto al procesamiento de los nutrientes como a la educación del sistema inmune (32). La exposición de la madre a sus antígenos de origen bacteriano también puede influir en el reclutamiento y la activación de las células T y de los elementos de origen mielóide del recién nacido (33). La colonización muy temprana por bacterias comensales puede influir de manera profunda sobre el desarrollo del tejido linfoide intestinal y hace madurar las respuestas inmunes. Las células T fetales, diseminadas en la lámina propia de la mucosa intestinal antes del nacimiento pueden regular la capacidad del pool de células T que se están desarrollando en la mucosa para generar respuestas a antígenos. Su activación depende del estado de la colonización microbiológica del reservorio materno y si éste no alberga una microbiota comensal, las células T permanecen vírgenes de contacto antigénico (naive) (32). Las bacterias comensales del intestino no son espectadores pasivos (bystanders) en estos procesos, ya que tanto el desarrollo adecuado del tracto gastrointestinal como del sistema inmune del mamífero huésped dependen de su presencia. Los ratones “libres de gérmenes” criados en un ambiente libre de microorganismos, tienen un epitelio intestinal malformado, su GALT no se desarrolla de manera normal y además presentan defectos gene-

ralizados del funcionamiento de su sistema inmune (34). Es un hecho reconocido desde hace largo tiempo que la introducción de una microbiota comensal al intestino de estos animales “libres de gérmenes”, induce en ellos la maduración de su sistema inmune. Recientemente se ha demostrado que un polisacárido (PSA) aislado de una bacteria comensal, *Bacteroides fragilis*, es capaz de producir la maduración física y celular del sistema inmune cuando está en desarrollo (35, 36). Se ha demostrado asimismo que otras bacterias no cultivables también son capaces de estimular el desarrollo del sistema inmune (37). Aunque se desconoce el mecanismo preciso a través del cual las bacterias ejercen estas actividades, existe cada vez más evidencia que sugiere que la microbiota comensal del intestino puede influenciar la biología celular de la células epiteliales y del estroma, el funcionamiento de las células dendríticas y la maduración de las células T y B, lo que indica que sus efectos a nivel del sistema inmune de la mucosa son profundos.

Organización de la defensa de la mucosa del tracto gastrointestinal

Los seres humanos coexisten con una comunidad bacteriana extraordinariamente variada y densa. Después del nacimiento, el intestino es colonizado rápidamente y a partir de ese momento se producen cambios considerables de la microflora, que se prolongan hasta la edad adulta. La microbiota del ser humano adulto está presente fundamentalmente en el colon y en el intestino delgado distal y consiste en más de 10^{13} microorganismos pertenecientes a 500 a 1.000 especies diferentes (34). La superficie de la mucosa del tracto gastrointestinal del adulto, interactúa en forma constante con una carga enorme de bacterias comensales y, ocasionalmente, con patógenos y esto lo hace susceptible de sufrir colonizaciones anormales que resultan en invasiones por estos microorganismos. El tracto gastrointestinal ha desarrollado un tejido linfoide asociado que expresa respuestas inmunes, tanto in-

natas como adaptativas, para combatir a los patógenos potencialmente letales. Existen múltiples mecanismos que aseguran que las bacterias comensales son mantenidas bajo control, es decir, que no estimulan al sistema inmune en forma exagerada; los patógenos, en cambio, pueden desencadenar una respuesta inmune innata rápida y adecuada cuando es necesario. En las secciones precedentes examinamos la cronología intrínseca del desarrollo del sistema inmune de la mucosa digestiva fetal, es decir, el conjunto de factores ambientales que interactúan con los componentes inmunes inmaduros del intestino, para establecer el sistema inmune más grande del organismo. A continuación se examinará de qué manera el sistema inmune intestinal maduro puede organizar la defensa de la mucosa como respuesta a una señal de peligro.

Mecanismos de protección de la mucosa

Las células del epitelio intestinal

La capa de células epiteliales de la mucosa intestinal representa la primera barrera física frente a la entrada de microbios hacia los tejidos del organismo. Esta monocapa polarizada de células epiteliales, unidas entre sí por uniones estrechas, recubre el lumen y es un elemento clave en la defensa contra la invasión por patógenos.

El mucus

Las microvellosidades del ribete estriado contribuyen a la función de barrera, representando un componente estructural importante porque expresan y secretan continuamente a través de la superficie apical de los enterocitos, las glicoproteínas que forman el mucus y el glicocáliz. La capa de mucus, rica en mucinas intestinales, se distribuye a lo largo de todo el tracto gastrointestinal y es producida mayormente por las células caliciformes. El mucus forma una capa relativamente flexible y pegajosa que dificulta la adherencia de microorganismos a la superficie del intestino. Englobados en el mucus, los microorganismos son eliminados del intestino por el peristaltismo y las secreciones líquidas provenientes

de diversas fuentes del tracto digestivo (26). Observaciones frecuentes han demostrado que la mucina puede sufrir procesos de glicosilación anormal asociados con patologías, entre las que se incluyen la fibrosis quística, la enfermedad de Crohn y el cáncer (38, 39). Tomadas en conjunto, las capas de mucina que recubren el intestino representan un escudo que impide la interacción entre los microorganismos y la células epiteliales intestinales.

Péptidos intestinales

La mucosa del intestino produce también un amplio espectro de moléculas antimicrobianas que contribuyen a mantener la integridad del epitelio. Estos péptidos antimicrobianos representan, a nivel de la superficie de la mucosa, una barrera biológica importante frente a los patógenos bacterianos (40); su secreción puede ser constitutiva o inducida por agentes patógenos específicos (41). Los péptidos antimicrobianos tienen típicamente una longitud de 12 a 50 aminoácidos, son ricos en residuos básicos e hidrofóbicos y se clasifican en cinco familias en base a sus estructuras terciarias: láminas- α , láminas- β , lineales, en asa y péptidos producidos por la digestión proteolítica de proteínas catiónicas, tales como la lactoferrina y la cathepsina G (42). Sus principales características son el resultado de su capacidad para adoptar una conformación tridimensional en la que los aminoácidos hidrofóbicos y catiónicos se agrupan espacialmente para formar una molécula anfifílica que induce la formación de poros en la pared bacteriana, lo que causa su muerte ya sea en forma directa o con la participación de la lisozima. Estos péptidos tienen también la capacidad de reclutar y activar células de los sistemas inmunes innato y adaptativo (43, 44).

Las defensinas humanas, que representan una de las subfamilias mejor conocidas de estos péptidos antimicrobianos, pueden jugar un papel protector importante a nivel de la superficie de las mucosas. Las defensinas están subdivididas a su vez en dos subfamilias: las α -defensinas (HAD) y las β -defensinas (HBD). De ellas, la defensina humana 5 (HD5) y la HD6 juegan un papel crítico en la inmunidad intesti-

nal y son producidas constitutivamente por las células de Paneth del fondo de las criptas de Lieberkühn del intestino delgado (43, 45). Se han identificado 6 β -defensinas humanas (HDB) que se encuentran en, y son expresadas primariamente por, las células epiteliales intestinales (46). La expresión de estas defensinas (HDB 2-4) puede ser inducida por una infección o por señales proinflamatorias (47, 48).

La respuesta inmune innata

Una de las principales características de las bacterias patógenas es su habilidad para contactar la superficie apical de las células epiteliales, unida a su capacidad para alterar la estructura y el funcionamiento del epitelio. Cuando atraviesan el glicocálix, la mucina, la IgA y las defensas representadas por los péptidos antimicrobianos, las bacterias entran en contacto estrecho con el epitelio. La integridad del epitelio requiere la detección directa de productos provenientes de las bacterias y la activación del factor de transcripción NF κ B por el sistema inmune innato. Esta detección es mediada por una variedad de receptores característicos para diversas familias de bacterias, los que reconocen en ellas secuencias de aminoácidos codificadas genéticamente, presentes en proteínas de su superficie y que reciben la denominación de receptores para el reconocimiento de patrones moleculares (PRRs, pattern recognition receptors) (49, 50). En el intestino hay dos grupos de PRRs, los receptores tipo Toll (Toll-like receptors, TLRs) y los receptores tipo Nod (Nod-like receptors, NLRs), que juegan un papel muy importante en el reconocimiento de las bacterias patógenas y comensales por parte del sistema inmune de la mucosa (51). Los TLRs son proteínas que están ancladas en las membranas de los enterocitos y están expresadas ya sea en la superficie de las células o en los organelos intracelulares. Por el contrario, los NLRs están presentes en el citosol. En los mamíferos hay 10-12 TLRs, presentes ya sea en forma individual o en combinaciones capaces de detectar e identificar un considerable repertorio de patrones moleculares asociados con los patógenos (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) (ver Tabla 2) (52, 53). En

años recientes se han identificado progresivamente tanto los agonistas para la mayor parte de los TLR como de las vías de señalización que estimulan; por ejemplo, el TLR4 detecta el lipopolisacárido de las bacterias gram negativas; el TLR2 detecta las lipoproteínas y el ácido lipoteicoico, mientras que la flagelina es detectada por el TLR5, los ácidos ribonucleicos de doble hebra (dsRNA) son detectados por el TLR3 y el TLR9 detecta el ácido desoxiribonucleico no metilado (ADN CpG) de los procariotas (53).

Después de ser activados, la mayoría de los TLRs inducen la síntesis del NF κ B, así como de moléculas que activan otras vías de señalización. La señalización por los TLRs activa tanto las respuestas del sistema de inmunidad innato como del sistema adaptativo, lo que estimula la inducción de respuestas defensivas óptimas frente a los diversos patógenos. La inmunidad innata inducida por los TLRs estimula la producción de péptidos antimicrobianos, interferones, citoquinas pro- y antiinflamatorias y quimioquinas (28, 54). Los TLRs también activan a las células dendríticas y modulan a las células T reguladoras y a las células B (55-57).

Los NLRs comprenden varias subfamilias de moléculas cuya identificación depende de la naturaleza de su dominio N terminal (58). Los NLRs Nod1 y Nod2 están implicados en el reconocimiento de los peptidoglicanos (PGN) bacterianos, uno de los principales componentes de la pared de las bacterias gram positivas. Nod1 y Nod2 son los únicos miembros de la familia de los NLRs que, al ser estimulados, son capaces de activar la vía del NF κ B (59). Las proteínas Nod pueden inducir la liberación de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias y, actuando sinérgicamente con el LPS, de desencadenar la activación de las células dendríticas (60).

Para explicar de qué manera los mecanismos de detección del huésped son capaces de detectar y discriminar entre comensales inofensivos y patógenos peligrosos se ha propuesto la existencia de varios mecanismos. Estos incluyen tanto la expresión compartimentalizada de PRRs como un proceso de atenuación de las señales proinflamatorias inducido por los microorganismos comensales (26).

Componentes microbianos	Especies	TLR/implicados
Bacterias		
Lipolisacárido	Bacterias Gram (-)	TLR4
Diacil lipopéptidos	Micoplasmas	TLR6/ TLR2
Triacil lipopéptidos	Bacterias y micobacterias	TLR1/ TLR2
Ácido lipoteicoico	Streptococcus o grupo B	TLR6/ TLR2
Prostaglandinas	Bacterias Gram (+)	TLR2
Porinas	Neisseria	TLR2
Lipoarabinomanano	Micobacterias	TLR2
Flagelina	Bacterias flageladas	TLR5
CpG-ADN	Bacterias y micobacterias	TLR9
Hongos		
Zimosan	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	TLR6/ TLR2
Fosfolipomanano	<i>Candida albicans</i>	TLR2
Manano	<i>Candida albicans</i>	TLR4
Glucuronoxilomanano	<i>Cryptococcus neoformans</i>	TLR2 y TLR4
Parásitos		
tGPI-mutina	<i>Trypanosoma</i>	TLR2
Glicoinositol fosfolípidos	<i>Trypanosoma</i>	TLR4
Hemozoína	<i>Plasmodium</i>	TLR9
Molécula similar a la profilina	<i>Toxoplasma gondii</i>	TLR11
Virus		
ADN	Virus	TLR9
ARN de hebra doble	Virus	TLR3
ARN de hebra simple	Virus de ARN	TLR7 y TLR8
Proteínas de envoltorio	VRS Virus del tumor mamario del ratón	TLR4
Proteína hemoaglutinina	Virus del sarampión	TLR2

Tabla 2. Componentes de la membrana externa de bacterias, hongos y virus y sus respectivos Toll Like Receptors (TLR).

Además de su función como barrera física y biológica, las células epiteliales intestinales pueden estimular tanto la inmunidad innata como la adaptativa. Estas inducciones involucran comunicaciones entre las células epiteliales de la mucosa intestinal y el tejido linfóide asociado con el tubo digestivo, como lo ilustra la Figura 2.

El tejido linfóide asociado con el intestino

El sistema inmune de las mucosas (GALT) está compuesto por células tanto del sistema inmune innato como del adaptativo, en que ambos trabajan en conjunto para neutralizar a los agentes infecciosos potencialmente peligrosos, manteniendo al mismo

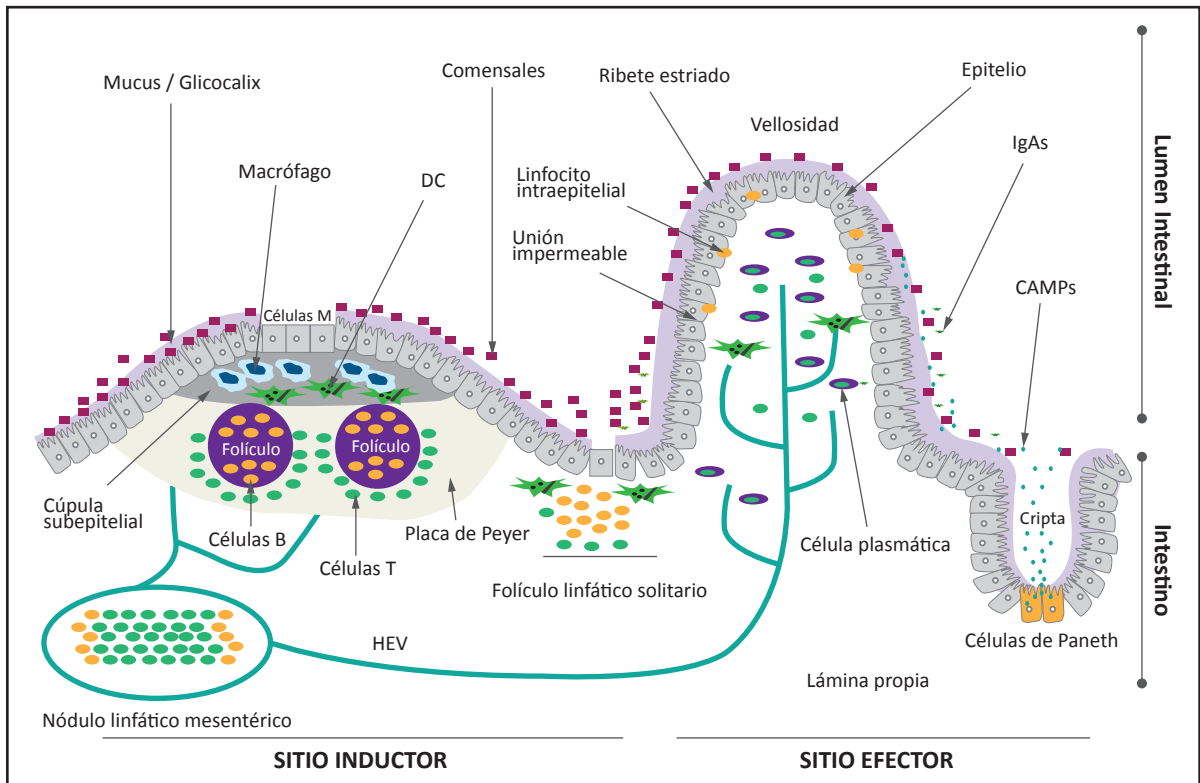


Figura 2. El sistema inmune del intestino. La microflora del lumen intestinal está separada de la lámina propia de la mucosa por una capa única de células epiteliales. Estas células son protegidas por: (i) una capa continua compuesta por mucus y el glicocáliz, que recubre el lado intestinal del ápice de las células epiteliales y (ii) un amplio espectro de péptidos catiónicos antimicrobianos (CAMPs) y grandes cantidades de IgA secretoria antígeno-específica. El sistema inmune del intestino está dividido desde el punto de vista funcional en dos compartimientos: el compartimiento inductor y el compartimiento efector. El compartimiento inductor incluye las placas de Peyer, los ganglios linfáticos mesentéricos y los folículos linfáticos solitarios. A nivel del epitelio asociado con los folículos (EAF), los antígenos procedentes del lumen son transportados a las células de la cúpula subepitelial por las células M (en inglés microfold) para su muestreo por las células dendríticas (DCs). A su vez, las DCs pueden iniciar respuestas inmunes en las placas de Peyer, en los folículos linfáticos solitarios o en los ganglios mesentéricos. Los componentes efectores incluyen el corion y el epitelio. En el epitelio, linfocitos intraepiteliales dispersos monitorean el daño de los enterocitos, mientras que la lámina propia contiene grandes números de células T, de células plasmáticas productoras de IgA, macrófagos y DCs. Estas DCs muestrean el lumen extendiendo sus dendritas, migran a los ganglios mesentéricos mediante la linfa y presentan los antígenos a las células T.

tiempo el estado de tolerancia para los antígenos de los alimentos y las bacterias comensales. La organización del sistema GALT puede dividirse en sitios efectores poco estructurados que incluyen la lámina propia de la mucosa y los linfocitos intraepiteliales, y estructuras mucho más organizadas, que incluyen los ganglios linfáticos mesentéricos (GLM), las placas de Peyer, los folículos linfáticos solitarios y las placas cripticas, recientemente descritas.

Los folículos linfáticos solitarios

Los folículos linfáticos solitarios son conjuntos de 100-200 linfocitos presentes a todo lo largo del intestino delgado. El 70% de la población celular de estos folículos está formada por linfocitos B (B2). Los folículos solitarios contienen también una pequeña proporción de linfocitos T $TCR\alpha\beta^+CD4^+$ (10%) y $TCR\alpha\beta^+CD8^+$ (3%), células dendríticas $CD11c^+$ (10%) y células $IL7R^+c-kit$ (15%) (Tabla1). Los folículos lin-

fáticos solitarios se parecen estructuralmente a las placas de Peyer, porque contienen un centro germinativo con células B positivas para la aglutinina del maní (PNA⁺) y un epitelio asociado con el folículo que incluye células M (microfold), pero carecen de una zona diferenciada formada por células T. Los folículos linfáticos maduros han sido descritos como estructuras linfoides bien organizadas, localizadas en el borde antimesentérico, formados principalmente por células B, con una cubierta formada por el epitelio asociado con el folículo (EAF) (61).

Los folículos linfáticos solitarios actúan como sitios inductivos para las respuestas inmunes de la mucosa. Su EAF incluye células M, las que pueden transportar antígenos desde el lumen hacia la estructura linfoide subyacente. La estrecha asociación entre el EAF y sus células M con los linfocitos y las células presentadoras de antígenos, facilita las interacciones del antígeno con las células presentadoras de antígenos y los linfocitos en procesos que, en último término, dan por resultado la producción de anticuerpos con alta afinidad por antígenos dependientes de los linfocitos T. Existe evidencia directa de que el cambio de información (switch) que resulta en la síntesis del isotipo IgA en vez de las otras inmunoglobulinas, se produce en los folículos linfáticos solitarios, que son también el lugar donde después de una inmunización por vía oral, las células plasmáticas productoras de IgA secretan anticuerpos dirigidos contra antígenos dependientes de las células T.

Aunque los folículos linfáticos solitarios pueden funcionar como sitios para la inducción de respuestas de la clase IgA antígeno-específicas a nivel de la mucosa intestinal, es notable que las respuestas manifestadas por la producción de IgA e iniciadas en los folículos, pueden no representar grandes contribuciones al pool total de IgA intestinal. Sin embargo, la naturaleza inducible de la formación de estos folículos solitarios y la capacidad de estas estructuras para actuar como sitios donde se originan las respuestas inmunes a nivel de la mucosa hacen de ellos objetivos atractivos tanto para terapias con vacunas a nivel de la mucosa como para el tratamiento de las enfermedades inflamatorias del tubo digestivo.

Las placas de Peyer

Las placas de Peyer (PP) son el órgano linfoide secundario más reconocible del intestino. Desde el punto de vista morfológico son conjuntos de tres o más agregados linfoides de gran tamaño con una cubierta de EAF. Estos agregados linfoides están compuestos principalmente por folículos de células B del tipo B2 y, distribuidos entre ellos, áreas pobladas por células T; los folículos están separados del lumen intestinal por una cúpula celular subepitelial y por el epitelio intestinal (61). En las PP el muestreo de antígenos es controlado por la capa de células epiteliales especializadas denominada EAF, que está enriquecida con células muy especializadas, de tipo M. Las células M realizan el transporte controlado de microorganismos y de macromoléculas (antígenos) desde el lumen hacia los folículos linfáticos subyacentes, para así comenzar una respuesta inmune adecuada. Este proceso está a cargo de una amplia red de células dendríticas situadas inmediatamente por debajo del EAF, en la región de la cúpula.

Se cree que las PP son una localidad importante para la inmunidad de la mucosa; una de las características distintivas de este sistema inmune es la capacidad de producir IgA. El centro germinativo de las PP apoya de manera preferencial el cambio de clase de inmunoglobulinas hacia el tipo IgA y estas células B IgA⁺ están relacionadas clonalmente con las células plasmáticas IgA⁺ presentes en la lámina propia. Este tipo de producción de IgA también depende de la cooperación de células T.

Hay dos tipos de respuestas primarias que se generan después de la administración oral de un antígeno: la inmunización y la tolerancia sistémica. Estudios recientes *in vitro* han demostrado que la adición a cultivos de células T de antígenos de origen no bacteriano que normalmente ingresan por vía oral de PP inducen la producción de IL-4 e IL-5 pero sin estimular la producción de interferón (IFN). Esta tendencia a la respuesta de tipo T-helper 2 (Th2) apoya la idea de que existe un predominio de las células B IgA⁺ producidas por las PP y que este proceso puede jugar un papel en la promoción de la tolerancia. En las PP este tipo de respuesta de las cé-

lulas T es estimulada primariamente por las DC (61). Los estudios que han investigado la estructura y función de la PP en los seres humanos han demostrado diferencias notables con los ratones (62). En los seres humanos la mayor parte de las PP están en el íleon, en tanto que en los ratones están distribuidas a lo largo del intestino delgado. Además, mientras en los seres humanos las PP se desarrollan en la etapa prenatal, en los ratones estas estructuras se desarrollan después del nacimiento, en un proceso estimulado por la presencia de microorganismos en el lumen intestinal (62). Por último, las células T de las PP de los seres humanos producen predominantemente interferón- γ (IFN- γ), una citoquina del patrón Th-1, a diferencia de las citoquinas IL-4, IL-5 y TGF- β , correspondientes al patrón Th-2, liberadas en los ratones. En los seres humanos la respuesta predominante, que corresponde al patrón Th-1, es secundaria a la abundante expresión de IL-12 en sus PP. Se ha propuesto una hipótesis según la cual estas diferencias de las respuestas de las células T, al comparar seres humanos y ratones, se deberían a diferencias de la microflora intestinal indígena y pueden ayudar a entender la dificultad para inducir tolerancia oral en los primeros (61).

Los nódulos linfáticos mesentéricos

Los NLMs del intestino delgado son los más voluminosos del organismo. Pocas horas después de una exposición oral a un antígeno, se produce su reconocimiento en los NLMs. Se ha propuesto que en este proceso estarían en juego varios mecanismos. En primer lugar, las DCs pueden migrar desde el intestino a los NLMs; esta migración depende de CCR7/CCL21 (citoquinas secundarias del tejido linfático) en el caso de las DCs maduras y de CCR6/CCL20 (proteína inflamatoria 3α de los macrófagos) para las DCs inmaduras. Estas DCs pueden presentar antígenos ingeridos por vía oral y actúan de forma preferencial en la presentación de antígenos cuando éstos son solubles y están presentes en bajas dosis. Además, cuando los antígenos están presentes en dosis bajas, la activación preferencial de las células T se produce en los NLMs y no en las PP. Un estudio reciente ha

demostrado que cuando se administran bacterias comensales por vía oral a ratones, los microorganismos no pueden ser recuperados en ningún tejido sistémico: quedan restringidos a los tejidos de la mucosa intestinal. Las bacterias fueron halladas en DCs que parecían haber tenido su origen en las PPs o en los folículos linfáticos solitarios y a continuación habrían migrado a los NLMs. Los NLMs son indispensables para el proceso de restringir las bacterias comensales al compartimiento mucoso, porque se condiciona en ellos una respuesta mucosa local del tipo IgA que funciona limitando la penetración sistémica de estas bacterias (63).

Se ha sostenido que en los ratones que carecen de PPs es posible inducir tolerancia oral, pero que esto no ocurre en los animales que no tienen NLMs. Las DCs de los NLM murinos parecen condicionar respuestas de tipo Th2, con producción preferencial de IL-4 e IL-10 como respuesta a la estimulación por antígenos de la dieta o por proteínas solubles. Sin embargo, en los ratones genéticamente predispuestos a desarrollar enfermedades inflamatorias del intestino, la estimulación de las células T de los NLMs por antígenos induce una respuesta de tipo Th-1, con producción de altos niveles de IFN- γ en vez de IL-10. Estos resultados sugieren que las alteraciones de la regulación de las respuestas inmunes que se producen en la enfermedades inflamatorias del tracto gastrointestinal pueden involucrar no sólo a las PP sino también a los NLMs (61).

Placas de las criptas de Lieberkühn (cryptopatches)

Las placas de las criptas de Lieberkühn (PCs) son pequeños agregados de células linfoides formados por unos 1.000 linfocitos c-kit⁺IL-7R⁺ Th1⁺CD3⁺B220⁻. Están distribuidas a lo largo de toda la mucosa del intestino a nivel de las criptas de Lieberkühn y se cree que son los sitios donde se generan los precursores de los linfocitos intraepiteliales (IELs). Algunas PCs están dedicadas al linaje de las células T y tienen la capacidad de generar IELs timo-independientes del tipo B. Sin embargo, la formación y las funciones de las PCs son menos evidentes en los seres humanos y siguen siendo objeto de controversias (61).

El sistema inmune de la mucosa del intestino está expuesto constantemente a un gran número de bacterias comensales. La barrera física que separa a las bacterias presentes en el lumen del intestino del resto del organismo, consiste en una capa única de células epiteliales más el mucus que recubre su superficie. Esta barrera puede ser penetrada por las infecciones de la mucosa, por enfermedades sistémicas y por fármacos, como por ejemplo el etanol. Por lo tanto, es vitalmente importante que exista una barrera mucosa inmune funcional y una adecuada interrelación entre los sistemas inmunes adaptativo e innato de la mucosa, para mantener bajo control a los microorganismos comensales y prevenir la translocación de bacterias. Esto está subrayado por varias observaciones: en primer lugar, bajo ciertas condiciones como las que existen en los pacientes inmunocomprometidos, los microorganismos comensales inofensivos se pueden transformar en patógenos oportunistas y causar infecciones graves; en segundo lugar, las bacterias comensales contienen moléculas que ejercen funciones inmunoestimuladoras generales (por ejemplo, LPS, secuencias CpG del ADN) que podrían dañar gravemente al huésped si estos microorganismos logran traspasar la barrera en números suficientemente grandes y, en tercer lugar, las cantidades de inmunoglobulinas circulantes, especialmente IgG e IgA, son afectadas por la presencia de bacterias comensales en el intestino. Además, los cambios del repertorio primario de células B que se producen como resultado de la penetración excesiva de microorganismos pueden dañar la capacidad de un individuo carente de experiencia inmune previa (naive) para sobrevivir una invasión por patógenos o puede generar una especificidad inadecuada que podría aumentar el riesgo de posteriores enfermedades autoinmunes.

Implicancias clínicas

Enterocolitis necrotizante

El período neonatal es crucial para la adquisición de una microbiota endógena y la maduración de la inmunidad de las mucosas. Al mismo tiempo, está

asociado con una sensibilidad aumentada a los agentes infecciosos y con respuestas exageradas de la inmunidad innata. La enterocolitis necrotizante neonatal (ECN) es un ejemplo típico de la forma en que la disrupción del frágil equilibrio que existe en el intestino neonatal del prematuro, puede dar por resultado una patología clínica grave. La ECN se caracteriza por una respuesta inflamatoria intestinal exacerbada asociada con una microbiota alterada y tiene una alta incidencia en la mortalidad neonatal (64). Aunque su etiología no se entiende del todo, se postula que el intestino de los recién nacidos de pretérmino, especialmente en ausencia de la alimentación con leche materna, se vuelve vulnerable a agentes bacterianos como consecuencia de la inmadurez de su epitelio (aumento de la permeabilidad) y de la existencia de una inmunodeficiencia transitoria. Los cambios de la microbiota que distorsionan la colonización del intestino por bacterias “antiinflamatorias” como *Bifidobacterium* y *Bacteroides* (28), así como la hiper-reactividad epitelial pueden actuar de manera sinérgica para promover el comienzo de la ECN (64).

Alergia

El sistema inmune enfrenta el desafío de responder a los patógenos permaneciendo al mismo tiempo, tolerante a los antígenos de los alimentos y a la microflora comensal. Los cambios de la microflora gastrointestinal debidos al empleo de antibióticos y a modificaciones de la dieta han causado en los países desarrollados alteraciones de los mecanismos reguladores mediados por la microbiota, que normalmente resultan en la inducción de tolerancia inmunológica a nivel de la mucosa del tubo digestivo. Esto ha llevado a un aumento de la incidencia de enfermedades alérgicas. Hay una cantidad importante de evidencia que apoya la hipótesis de que después de la etapa de desarrollo postnatal, la microbiota endógena juega un papel significativo en la organización del desarrollo del sistema inmune y que su balance adecuado juega un papel crítico en el mantenimiento a largo plazo de la tolerancia inmunológica a nivel de la mucosa del tubo digestivo.

El mecanismo más probable que participa en la disrupción de la tolerancia oral es la incapacidad del sistema inmune local para generar células T reguladoras (Treg). Las interacciones delicadamente equilibradas y probablemente específicas para cada tejido, que existen entre los efectores y las respuestas de las células T reguladoras, sirven para disminuir las respuestas inflamatorias frente a la microbiota y los antígenos provenientes de la dieta (65, 66). Los antígenos presentados por las células dendríticas, en ausencia de inflamación o en un tracto gastrointestinal saludable colonizado por una microbiota balanceada, estimulan de manera preferente la generación de células Treg. Así, en un modelo de alergia de la vía aérea en ratones, la alteración de la microbiota induce una desorganización del ambiente antiinflamatorio del intestino en el que las DCs adquieren antígenos. Como no se ha generado una respuesta Treg, las DCs condicionadas por los alérgenos maduran y estimulan las células Th-2. A nivel de los pulmones, un alérgeno inhalado estimula una respuesta Th-2, que normalmente es inhibida por la respuesta Treg, pero cuando dicha respuesta queda sin freno, se intensifica hasta convertirse en una respuesta inflamatoria alérgica.

Enfermedades autoinmunes

La característica primaria de las enfermedades autoinmunes es el daño de los tejidos y de sus capacidades funcionales causados por pérdidas de la tolerancia a componentes propios (autoantígenos). Los procesos iniciales que llevan a esta pérdida de la tolerancia hacia componentes del propio organismo siguen siendo desconocidos. Sin embargo, la alteración de la regulación de las respuestas inmunes intestinales frente a la microbiota comensal normal puede jugar un papel crucial en varias enfermedades inflamatorias y autoinmunes (67, 68). Estudios de enfermedades del ser humano efectuados en modelos experimentales en animales, como por ejemplo las enfermedades inflamatorias del intestino y las enfermedades reumáticas, demuestran que cuando los animales son criados libres de gérmenes, no desarrollan dichas patologías, lo que confirma el

importante papel de la microbiota normal (69, 70). Además, en dos modelos de diabetes tipo I en ratones, los ratones NOD y las ratas BB con tendencia a desarrollar diabetes, estos animales tienen altas probabilidades de enfermar cuando son criados libres de patógenos específicos o si han nacido por cesárea (71). En estos animales de laboratorio, la administración de antibióticos después del destete puede prevenir o disminuir la frecuencia de diabetes tipo I, lo que sugiere que algunos cambios de la microbiota afectan el desarrollo de la diabetes autoinmune (72, 73).

La predisposición genética y las alteraciones de la inmunidad de la mucosa y de la tolerancia inducidas por el ambiente, pueden generar alteraciones del funcionamiento de la barrera mucosa, aumentos del paso de microorganismos a la circulación y respuestas inmunes exageradas que incluyen procesos inflamatorios (74).

Referencias

1. Polak-Charcon S, Shoham J, Ben-Shaul Y. Tight junctions in epithelial cells of human fetal hindgut, normal colon, and colon adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1980; 65: 53-62.
2. Keller MS, Ezaki T, Guo R-J, Lynch JP. Cdx1 or Cdx2 expression activates E-cadherin-mediated cell-cell adhesion and compaction in human COLO 205 cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G104-114.
3. Zahraoui A, Louvard D, Galli T. Tight Junction, a platform for trafficking and signaling protein complexes. *J. Cell Biol.* 2000; 151: 31F-36.
4. Rumbo M, Schiffrin E. Ontogeny of intestinal epithelium immune functions: developmental and environmental regulation. *Cell Mol Life Sci.* 2005; 62: 1288-96.

5. Chambers JA, Hollingsworth MA, Trezise AE, Harris A. Developmental expression of mucin genes MUC1 and MUC2. *J Cell Sci* 1994; 107: 413-424.
6. Buisine M-P, Devisme L, Degand P, Dieu M-C, Gosselin B, Copin M-C, Aubert J-P, Porchet N. Developmental mucin gene expression in the gastroduodenal tract and accessory digestive glands. II. Duodenum and liver, gallbladder, and pancreas. *J. Histochem. Cytochem* 2000; 48: 1667-1676.
7. Moxey P, Trier J. Specialized cell types in the human fetal small intestine. *Anat Rec.* 1978; 191: 269-85.
8. Mallow EB, Harris A, Salzman N, Russell JP, De-Berardinis RJ, Ruchelli E, Bevins CL. Human enteric defensins. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 4038-4045.
9. Kunisawa J, Kiyono H. A marvel of mucosal T cells and secretory antibodies for the creation of first lines of defense. *Cell Mol Life Sci.* 2005; 62: 308-21.
10. Shah U, Dickinson B, Blumberg R, Simister N, Lencer W, Walker W. Distribution of the IgG Fc receptor, FcRn, in the human fetal intestine. *Pediatr Res.* 2003; 53: 295-301.
11. Nagashima R, Maeda K, Imai Y, Takahashi T. Lamina propria macrophages in the human gastrointestinal mucosa: their distribution, immunohistological phenotype, and function. *J. Histochem. Cytochem* 1996; 44: 721-731.
12. Pavli P, Maxwell L, Van de Pol E, Doe F. Distribution of human colonic dendritic cells and macrophages. *Clin Exp Immunol.* 1996; 104: 24-32.
13. Harvey J, Jones D, Wright D. Differential expression of MHC- and macrophage-associated antigens in human fetal and postnatal small intestine. *Immunology* 1990; 69: 409-15.
14. Smith PD, Smythies LE, Mosteller-Barnum M, Sibley DA, Russell MW, Merger M, Sellers MT, Orenstein JM, Shimada T, Graham MF, Kubagawa H. Intestinal macrophages lack CD14 and CD89 and consequently are down-regulated for LPS- and IgA-mediated activities. *J Immunol* 2001; 167 :2651-2656.
15. Russell G, Bhan A, Winter H. The distribution of T and B lymphocyte populations and MHC class II expression in human fetal and postnatal intestine. *Pediatr Res* 1990; 27: 239-44.
16. Golby S, Hackett M, Boursier L, Dunn-Walters D, Thiagamoorthy S, Spencer J. B cell development and proliferation of mature B cells in human fetal intestine. *J Leukoc Biol* 2002; 72: 279-284.
17. Mebius RE. Organogenesis of lymphoid tissues. *Nat Rev Immunol* 2003; 3:292-303.
18. Honda K, Nakano H, Yoshida H, Nishikawa S, Rennert P, Ikuta K, Tamechika M, Yamaguchi K, Fukumoto T, Chiba T, Nishikawa S-I. Molecular basis for hematopoietic/mesenchymal interaction during initiation of Peyer's patch organogenesis. *J. Exp. Med.* 2001;193:621-630.
19. Hashi H, Yoshida H, Honda K, Fraser S, Kubo H, Awane M, Takabayashi A, Nakano H, Yamaoka Y, Nishikawa S-I. Compartmentalization of Peyer's patch anlagen before lymphocyte entry. *J Immunol* 2001;166:3702-3709.
20. MacDonald T, Spencer J. Ontogeny of the mucosal immune response. *Springer Semin Immunopathol.* 1990; 12: 129-37.
21. Kraehenbuhl J-P, Neutra MR. Epithelial M cells: Differentiation and function. *Ann Rev Cell Develop Biol* 2000; 16: 301-332.
22. Mach J, Hshieh T, Hsieh D, Grubbs N, Chervonsky A. Development of intestinal M cells. *Immunological Reviews* 2005; 206: 177-189.

23. Iwasaki A, Kelsall BL. Localization of distinct Peyer's patch dendritic cell subsets and their recruitment by chemokines macrophage inflammatory protein (MIP)-3{alpha}, MIP-3{beta}, and secondary lymphoid organ chemokine. *J. Exp. Med* 2000;191:1381-1394.
24. Insoft R, Sanderson I, Walker W. Development of immune function in the intestine and its role in neonatal diseases. *Pediatr Clin North Am.* 1996;43:55-71.
25. Walker WA. The dynamic effects of breastfeeding on intestinal development and host defense. *Adv Exp Med Biol.* 2004; 554: 155-70.
26. Magalhaes JG, Tattoli I, Girardin SE. The intestinal epithelial barrier: How to distinguish between the microbial flora and pathogens. *Seminars Immunol* 2007; 19: 106-115.
27. Bullen C, Tearle P, Willis A. Bifidobacteria in the intestinal tract of infants: an in-vivo study. *J Med Microbiol.* 1976; 9 :325-33.
28. Kelly D, Campbell J, King T, Grant G, Jansson E, Coutts A, Pettersson S, Conway S. Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. *Nat Immunol.* 2004; 5: 104-12.
29. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, van den Brandt PA, Stobberingh EE. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006; 118: 511-521.
30. Kelly D, King T, Aminov R. Importance of microbial colonization of the gut in early life to the development of immunity. *Mutation Res/Fundamental Mol Mech Mutagenesis* 2007; 622: 58-69.
31. Bauer E, Williams B, Smidt H, Versteegen M, Mosenthin R. Influence of the gastrointestinal microbiota on development of the immune system in young animals. *Curr Issues Intest Microbiol.* 2006; 7: 35-51.
32. Suzuki K, Ha S-a, Tsuji M, Fagarasan S. Intestinal IgA synthesis: A primitive form of adaptive immunity that regulates microbial communities in the gut. *Seminars Immunol* 2007; 19: 127-135.
33. Williams A, Probert C, Stepankova R, Tlaskalova-Hogenova H, Phillips A, Bland P. Effects of microflora on the neonatal development of gut mucosal T cells and myeloid cells in the mouse. *Immunology* 2006; 119: 470-8.
34. Hooper LV. Bacterial contributions to mammalian gut development. *Trends Microbiol* 2004;12:129-134.
35. Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* 2005;122:107-118.
36. Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature* 2008; 453: 620-625.
37. Umesaki Y, Setoyama H, Matsumoto S, Imaoka A, Itoh K. Differential roles of segmented filamentous bacteria and clostridia in development of the intestinal immune system. *Infect Immun* 1999; 67: 3504-11.
38. Kim JM, Eckmann L, Savidge TC, Lowe DC, Witthöft T, Kagnoff MF. Apoptosis of human intestinal epithelial cells after bacterial invasion. *J Clin Invest* 1998; 102: 1815-23.
39. Brockhausen I. Pathways of O-glycan biosynthesis in cancer cells *Biochim Biophys Acta* 1999; 1473: 67-95.

40. Schneider JJ, Unholzer A, Schaller M, Schäfer-Korting M, Korting HC. Human defensins. *J Mol Med* 2005; 83: 587-595.
41. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder J-M. Isolation and characterization of human beta-defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J. Biol. Chem* 2001; 276: 5707-5713.
42. Hancock REW, Scott MG. The role of antimicrobial peptides in animal defenses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:8856-61.
43. Lehrer R, Ganz T. Antimicrobial peptides in mammalian and insect host defence. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 23-7.
44. Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 2002; 415: 389-95.
45. Salzman N, Ghosh D, Huttner K, Paterson Y, Bevins C. Protection against enteric salmonellosis in transgenic mice expressing a human intestinal defensin. *Nature* 2003; 422: 522-6.
46. Schutte B, Mitros J, Bartlett J, Walters J, Jia H, Welsh M, Casavant T, McCray PJ. Discovery of five conserved beta-defensin gene clusters using a computational search strategy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 2129-33.
47. Louise A Duits PHNESJBVSPGM-LMAJASPSH. Rhinovirus increases human β -defensin-2 and -3 mRNA expression in cultured bronchial epithelial cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003; 38: 59-64.
48. Proud D, Sanders SP, Wiehler S. Human Rhinovirus infection induces airway epithelial cell production of human β -defensin 2 both in vitro and in vivo. *J Immunol* 2004; 172: 4637-4645.
49. Kimbrell D, Beutler B. The evolution and genetics of innate immunity. *Nat Rev Genet.* 2001; 2: 256-67.
50. Imler J, Hoffmann J. Toll signaling: the TIRless quest for specificity. *Nat Immunol.* 2003;4.
51. Philpott D, Girardin S. The role of Toll-like receptors and Nod proteins in bacterial infection. *Mol Immunol.* 2004; 41: 1099-108.
52. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124: 783-801.
53. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 499-511.
54. Schottelius A, Dinter H. Cytokines, NF-kappa B, microenvironment, intestinal inflammation and cancer. *Cancer Treat Res* 2006; 130: 67-87.
55. Pasare C, R M. Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature* 2005; 438: 364-8.
56. Pasare C, Medzhitov R. Toll-dependent control mechanisms of CD4 T cell activation. *Immunity* 2004; 21: 733-41.
57. Blander JM, Medzhitov R. Toll-dependent selection of microbial antigens for presentation by dendritic cells. *Nature* 2006; 440: 808-812.
58. Werts C, Girardin SE, Philpott DJ. TIR, CARD and PYRIN: three domains for an antimicrobial triad. *Cell Death Differ* 2006; 13:798-815.
59. Werts C, le Bourhis L, Liu J, Magalhaes JG, Carneiro LA, Fritz JH, Stockinger S, Balloy V, Chignard M, Decker T, Philpott DJ, Ma X, SE. G. Nod1 and Nod2 induce CCL5/RANTES through the NF-kappaB pathway. *Eur J Immunol* 2007; 37: 2499-2508.

60. Fritz J, Girardin SE, Fitting C, Werts C, Mengin-Lecreux D, Caroff M, Cavaillon J, Philpott D, Adib-Conquy M. Synergistic stimulation of human monocytes and dendritic cells by Toll-like receptor 4 and NOD1- and NOD2-activating agonists. *Eur J Immunol*. 2005; 35: 2459-2470.
61. Newberry RD, Lorenz RG. Organizing a mucosal defense. *Immunol Rev* 2005; 206: 6-21.
62. Makala L, Suzuki N, Nagasawa H. Peyer's patches: organized lymphoid structures for the induction of mucosal immune responses in the intestine. *Pathobiology* 2002-2003; 70: 55-68.
63. Macpherson AJ, Uhr T. Induction of Protective IgA by Intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 2004; 303: 1662-1665.
64. Claud EC, Walker WA. Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *FASEB J* 2001; 15: 1398-1403.
65. Powrie F. Immune regulation in the intestine: a balancing act between effector and regulatory T cell responses. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1029: 132-141.
66. Izcue A, Coombes J, Powrie F. Regulatory T cells suppress systemic and mucosal immune activation to control intestinal inflammation. *Immunol Rev* 2006; 212: 256-71.
67. Strober W, Fuss IJ, Blumberg RS. The immunology of mucosal models of inflammation. *Ann Rev Immunol* 2002; 20: 495-549.
68. Singh B, Read S, Asseman C, Malmstrom V, Motter C, Stephens LA, Stepankova R, Tlaskalova H, Powrie F. Control of intestinal inflammation by regulatory T cells. *Immunol Rev* 2001; 82: 90-200.
69. Sellon RK, Tonkonogy S, Schultz M, Dieleman LA, Grenther W, Balish E, Rennick DM, Sartor RB. Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice. *Infect Immun* 1998; 66: 5224-31.
70. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361: 512-9.
71. Vaarala O, Atkinson MA, Neu J. The "Perfect Storm" for type 1 diabetes: the complex interplay between intestinal microbiota, gut permeability, and mucosal immunity. *Diabetes* 2008; 57: 2555-2562.
72. Brugman S, Klatter FA, Visser JT, Wildeboer-Veloo AC, Harmsen HJ, Rozing J, Bos NA. Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the Bio-Breeding diabetes-prone rat. Is the gut flora involved in the development of type 1 diabetes? *Diabetologia* 2006; 49: 2105-8.
73. Schwartz RF, Neu J, Schatz D, Atkinson MA, Wasserfall C. Comment on: Brugman S et al. () Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the Bio-Breeding diabetes-prone rat. Is the gut flora involved in the development of type 1 diabetes? *Diabetologia*. *Diabetologia* 2007;50:220-1.
74. Tlaskalová-Hogenová H, Stepánková R, Hudcovic T, Tucková L, Cukrowska B, Lodinová-Zádníková R, Kozáková H, Rossmann P, Bártová J, Sokol D, Funda DP, Borovská D, Reháková Z, Sinkora J, Hofman J, Drastich P, Kokesová A. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol Letters* 2004; 93: 97-108.

Mecanismos de control de la ingesta de alimentos

Fernando Torrealba

El concepto de balance energético es de enorme ayuda para poner la ingesta de alimentos y sus procesos de control en los seres humanos en un contexto funcional. Al igualar en una simple ecuación ingesta y gasto observamos fácilmente que ambos tienen igual importancia al momento de tratar de entender las causas y los mecanismos que llevan al depósito del sobrante de energía en el tejido adiposo, que actúa almacenando dicho exceso.

Desde el punto de vista de la neurociencia, la motivación dirige la conducta del individuo al proporcionar tanto dirección como intensidad (1). La dirección la dan las recompensas, hacia las cuales nos aproximamos, o los castigos, de los cuales nos alejamos. La intensidad que caracteriza las motivaciones es generada por los sistemas de vigilia del cerebro, los cuales originan el estado de alerta aumentado, típico de una búsqueda motivada. En este capítulo revisaremos las principales ideas que la neurociencia ha producido para entender los mecanismos neuronales y conductuales que regulan la ingesta de alimento. No abordaremos el otro componente de la ecuación del balance energético, esto es, no discutiremos mayormente sobre el gasto de energía.

Nuestra herencia evolutiva nos empuja a aprovechar los alimentos al máximo. En breve, nuestros cerebros y conducta son muy eficientes para un mundo donde la comida es escasa, pero no poseemos mecanismos de control para los tiempos de abundancia. Nuestro cerebro fue el producto evolutivo adecuado para el estado del planeta cuando aparecimos sobre él.

Antecedentes evolutivos y culturales

Los seres humanos emergieron como especie hace 100.000 a 200.000 años, probablemente aisladamente en África y como muchos antepasados del género *Homo*, se expandieron por todo el planeta empujados por una fuerte avidez por explorar y aprovechar nuevos territorios. Obtuvieron el alimento necesario recolectando, cazando y pescando durante las decenas de miles de años en que *Homo* vivió como nómada (2). Los análisis arqueológicos de los asentamientos de *Homo sapiens* muestran que cuando vivía como cazador-recolector, hace más de 12.000 años, comía una gran variedad de tubérculos, frutos y lo que hubiese disponible como caza o pesca. Afortunadamente, hay además registros confiables acerca de la subsistencia de seres humanos que viven o vivieron como cazadores-recolectores durante el siglo XX. Entre ellos no había exceso de peso; al contrario, la necesidad de gastar mucha energía para, entre otras cosas, obtener comida, los mantenía en buen estado físico, fuertes y delgados. Además, estaban muy conscientes del gasto energético y de los recursos que implica en general la búsqueda de alimento. Aparentemente, nuestros antepasados cazadores-recolectores usaban en promedio unas pocas horas del día para procurarse comida, ocupando el resto del tiempo en actividades sociales, exploración y ocio.

Control de la ingesta de alimentos

Para ordenar la discusión acerca de los factores que influyen sobre la ingesta de alimentos, es útil hacer la distinción propuesta por de Castro (3). En la ingesta de alimentos influyen factores compensados y factores no compensados. Los factores compensados son aquellos sobre los que influye la ingesta, como es por ejemplo el hambre. Los factores no compensados no son influidos por cuánto alimento se come; en este grupo están incluidos factores como, por ejemplo, el número de personas con quienes uno come: comemos más si lo hacemos en compañía, pero cuánto comamos en una ocasión particular no afecta al número de comensales con quienes compartimos la mesa o la fiesta.

Factores compensados que controlan la ingesta

Siguiendo con la visión evolutiva, la búsqueda y el consumo de comida son un ejemplo clásico de una conducta motivada que persigue la supervivencia del individuo y sus genes. La conducta humana es el resultado de la complejísima actividad del cerebro, órgano con que la evolución ha dotado al ser humano para la mejor preservación y multiplicación de su patrimonio hereditario. La necesidad de obtener nutrientes a través de una conducta que tiene por objetivo mantener la homeostasis corporal es guiada por la búsqueda de recompensas. Esto es, la dirección de las conductas motivadas está señalada por reforzadores a los cuales nos acercamos o a los que procuramos obtener (si son recompensas o reforzadores positivos), o bien de quienes nos alejamos para evitar castigos (reforzadores negativos de la conducta). Tal vez para fortalecer las conductas motivadas es que existen señales homeostáticas como el hambre, y señales hedónicas como el placer de comer, que separadamente pero interactuando entre ellas, nos empujan a buscar e ingerir alimentos.

Comer como acto homeostático

La mayoría de los animales, y también los seres humanos, no ingieren alimento en forma ininterrumpida sino que dividen la ingesta en episodios llamados comidas (4). El inicio de la búsqueda de alimento es el resultado de señales internas, típicamente el hambre, o externas, como la disponibilidad de alimento atractivo. Como contraparte, una comida finaliza como resultado de señales de saciedad. En las siguientes secciones se desarrollarán las ideas y conceptos clave referentes a las señales de hambre y de saciedad y su procesamiento en el cerebro, orquestador final de toda conducta (Figura 1).

El hambre

La respuesta a la pregunta de porqué una persona tiene hambre pasa muchas veces por una explicación (cuando el entrevistado tiene formación biológica) que es una variante de la hipótesis glucostática: tiene hambre porque le bajó la glicemia. O bien puede ser una explicación más amplia: tiene hambre porque disminuyó su “energía” (y aquí se pueden mencionar, además de la glucosa, los lípidos). Y es cierto que una baja aguda de la glicemia, típicamente inducida por una inyección de insulina, induce fuertemente a procurar alimento. Pero en la vida real esto no ocurre y es lógico que sea así. Una baja mantenida de la glicemia no es compatible con el funcionamiento adecuado del cerebro. Este órgano tan exigente desde el punto de vista energético (consume el 20% de la energía metabólica, aunque es sólo el 2% del peso corporal), obtiene casi toda su energía de la glucosa circulante. Por ello se piensa que el comienzo de la búsqueda de alimento, cuya duración e intensidad son poco predecibles, no representa una ventaja evolutiva si se inicia con el cerebro funcionando en forma subóptima como resultado de un déficit de la glucosa disponible. Sin embargo, la hipótesis glucostática, en su acepción más amplia, está lejos de ser descartada. Al contrario, Campfield y Smith (5) propusieron y estudiaron experimentalmente un mecanismo muy interesante y con amplia capacidad explicativa para

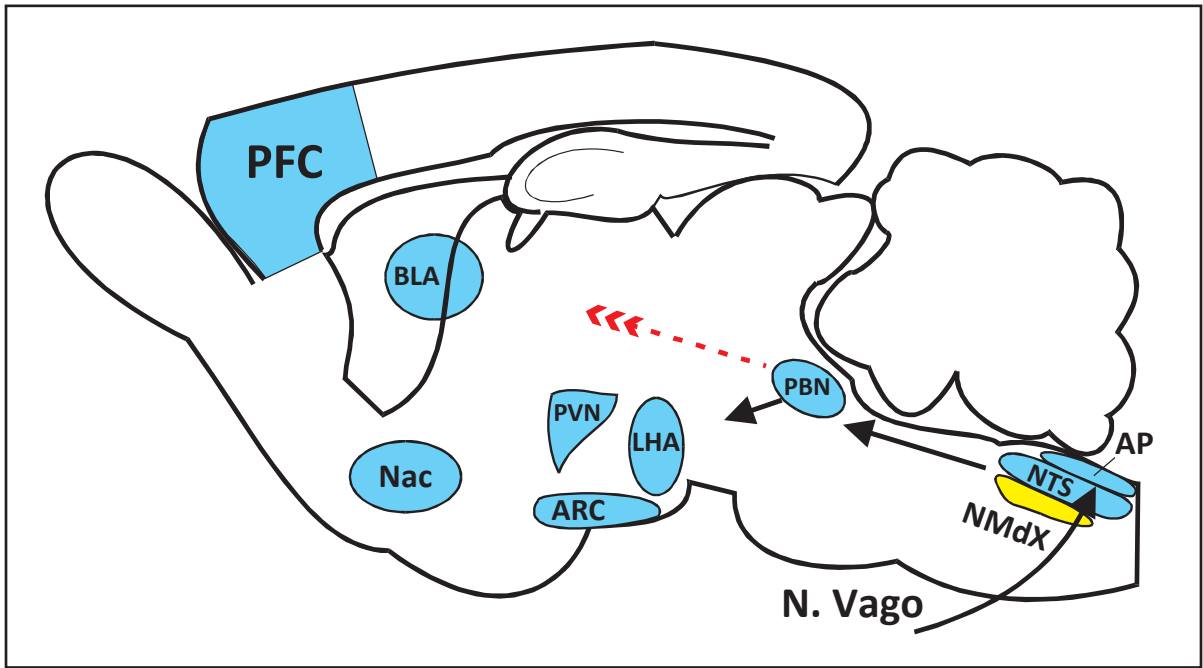


Figura 1. Esquema de un cerebro de mamífero en vista sagital. En azul se indican las principales regiones cerebrales involucradas en el control de la ingestión de comida, y en amarillo el núcleo motor dorsal del nervio vago (NMdX) que es la rama eferente de este nervio y que inerva gran parte del aparato digestivo. Las flechas señalan el flujo ascendente de información sensorial relevante, desde las aferencias del nervio vago hasta la corteza prefrontal. La flecha roja indica las conexiones neuronales desde el núcleo parabraquial del puente (PBN) hacia la corteza insular, con relevo en el tálamo sensorial visceral; creemos que esta vía participa en las percepciones conscientes de hambre y saciedad. AP, área postrema; ARC, núcleo arcuato del hipotálamo; BLA, amígdala basolateral; LHA, área hipotalámica lateral; Nac, núcleo accumbens; NTS, núcleo del tracto solitario; PFC, corteza prefrontal; PVN, núcleo paraventricular del hipotálamo.

entender el inicio de la búsqueda espontánea de comida. Estos autores desarrollaron un protocolo para medir la glucosa plasmática en forma continua y mínimamente invasiva, lo que les permitió medir esta variable durante horas e incluso días en ratas y en seres humanos. En ambas especies, una leve, 10%, y breve, de 15 minutos, caída de la glicemia precedió en el 100% de las ocasiones a la búsqueda (en las ratas) o a la petición (en los seres humanos) de comida. Campfield y Smith demostraron que esta caída leve y transitoria de la glicemia era causada por un alza aguda de la insulina plasmática. Esta, a su vez, era secundaria a un aumento transitorio de la actividad del nervio vago y de la liberación de su neurotransmisor, la acetilcolina, que despolariza las células beta del páncreas al unirse a sus receptores

muscarínicos, haciéndolas secretar insulina (5). La búsqueda de comida se producía en la fase de ascenso de la glicemia, esto es, unos 10 a 12 minutos desde el comienzo de su descenso. Si el descenso de la glicemia se acertaba en intensidad y duración, o si por 10 minutos se impedía el consumo de alimento, entonces esta búsqueda espontánea de comida no se producía. Los autores propusieron un modelo neurobiológico de flujo de información entre el cerebro y el resto del organismo, en que cada cierto tiempo el cerebro interroga a la economía corporal acerca de su capacidad para manejar caídas de la glicemia. El pulso agudo de insulina generado por el cerebro y efectuado por medio de la inervación vagal de las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas endocrino es la pregunta. La respuesta

está codificada en la magnitud y duración de la caída transitoria de la glicemia, y depende con toda seguridad de la capacidad de la economía corporal, principalmente del hígado, de aportar glucosa al torrente sanguíneo metabolizando ácidos grasos. Una caída de la glicemia mayor del 10-12% de los niveles basales le indica al cerebro que es necesario y bueno buscar alimento. Los sensores de glucosa que contribuyen a iniciar la búsqueda espontánea de alimento se localizan en el sistema nervioso central (SNC) y en la periferia. Se han identificado fibras sensoriales que inervan el hígado y que responden a cambios de la glucosa plasmática. Estos sensores hepáticos de glucosa envían información al núcleo del tracto solitario, que es el principal núcleo sensorial del sistema interoceptivo, encargado de monitorear continuamente el estado fisiológico del organismo. En el SNC se han identificado también neuronas glucosensoras en el núcleo del tracto solitario, en el área postrema, y con bastante certeza en el hipotálamo basal, en la región del núcleo arcuato o sus regiones vecinas (Figuras 1 y 2). Sin embargo, aún no ha sido

posible identificar a las neuronas centrales o los sensores periféricos que responden específicamente a una breve caída de la glucosa, como la que gatilla la búsqueda espontánea de comida. Los sensores de glucosa conocidos responden ya sea a caídas de magnitud variable o a aumentos, pero no ha sido posible identificar hasta ahora algún tipo de célula que detecte específicamente el patrón temporal de glucosa plasmática caracterizado por el descenso del 10% de su nivel y su posterior recuperación en pocos minutos.

Un hallazgo interesante y novedoso, que ha identificado al hipotálamo ventral como una región clave de convergencia de diferentes señales de hambre, fue el descubrimiento de neuronas localizadas en esa región del cerebro, en el núcleo arcuato o en su vecindad, que responden a disminuciones de los niveles circulantes de los ácidos grasos, así como a las disminuciones de los niveles locales de glucosa (6). Estas neuronas son excepcionales por cuanto son sensibles simultáneamente a las dos fuentes circulantes de energía; su actividad se modifica dramáti-

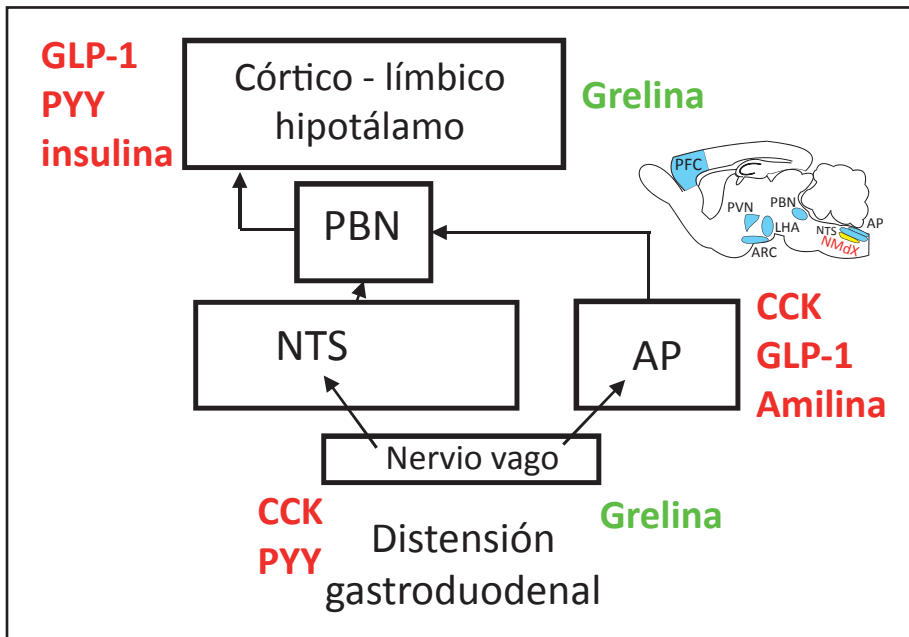


Figura 2. Regiones cerebrales involucradas en la regulación del inicio y término de una comida. Se indica el sitio de acción de las señales hormonales principales y de la distensión gástrica o duodenal. En verde se indica la grelina, hormona que promueve la ingestión de comida; en rojo se indica las hormonas que inhiben dicha ingestión. AP: área postrema; NTS: núcleo del tracto solitario; PBN: núcleo parabraquial del puente.

camente al tratarlas con fármacos que bloquean el metabolismo, ya sea de la glucosa o de los ácidos grasos y que administrados en forma sistémica o localmente en el hipotálamo ventral, inducen la ingesta de comida en animales saciados.

La grelina es una hormona secretada por la mucosa gástrica, identificada recientemente y que constituye una señal para el inicio de la comida; actúa sobre neuronas del núcleo arcuato en el hipotálamo ventral, sumándose a las señales de disminución de la glucosa y los ácidos grasos para promover la ingesta de alimento (Figura 3). Los niveles plasmáticos de grelina aumentan en paralelo con la sensación de hambre o con el inicio de la búsqueda de comida. Interesantemente, un efecto no esperado de la disminución de la capacidad gástrica mediante tratamientos quirúrgicos para potenciar las señales de saciedad (ver abajo), fue una reducción importante de los niveles basales o preprandiales de grelina.

La saciedad

Existe un mayor nivel de comprensión acerca de la sensación de saciedad, en cuanto a sus mecanismos neuronales y a los circuitos nerviosos centrales que la subyacen, que respecto de los mecanismos que generan la sensación de hambre. La saciedad se origina desde el tubo digestivo en respuesta a la llegada de alimento, con su variado contenido de nutrientes, que representa el ingreso de calorías, y al aumento del volumen gástrico o duodenal (7). La saciedad no es un fenómeno primariamente sensorial en el que la estimulación mantenida de los receptores gustatorios y del olfato lleva a una especie de cansancio o de aburrimiento perceptivo, que hace deseable no seguir ingiriendo alimentos. Esta distinción entre la saciedad de origen sensorial y aquella de origen homeostático fue demostrada experimentalmente en situaciones de comida ficticia en las que la comida, luego de pasar por la boca y ser deglutida, era derivada al exterior a través de una fístula gástrica; en estas circunstancias los sujetos experimentales no mostraban saciedad incluso después de largas comidas ininterrumpidas. Bien sabían de saciedad los romanos antiguos, que usaban una pluma para inducir-

se el vómito y así seguir disfrutando de la experiencia de comer por el placer que produce.

Se han identificado dos grupos de señales de saciedad: un grupo es originado por la distensión del estómago y/o del duodeno, que estimula mecanorreceptores identificados anatómicamente y electrofisiológicamente en la pared de estos órganos y que, al ser parte de los axones sensoriales del nervio vago, envían su información al núcleo del tracto solitario en el bulbo raquídeo (Figura 2). La magnitud de la distensión gástrica o duodenal se codifica a través de las frecuencias de descarga de potenciales de acción de las fibras vagales correspondientes y es representada también en la actividad de las neuronas del núcleo del tracto solitario.

El segundo grupo de señales de saciedad es originado por un conjunto de hormonas que el tubo digestivo —principalmente el duodeno, el colon— libera a la sangre (Figura 3) como respuesta a la llegada de muchos de los nutrientes que contienen los alimentos (7, 8). Estos nutrientes: aminoácidos, ácidos grasos de cadena corta, azúcares, lípidos, etc, son detectados por quimiorreceptores presentes en células de la mucosa del tubo digestivo alto, las cuales secretan hormonas como la colecistoquinina (CCK), que son potentes inhibidores de la ingesta de alimentos que, y en condiciones normales, limitan el tamaño de cada comida. Estas señales de tipo hormonal interactúan positivamente con las señales de distensión gastro-duodenal y se potencian mutuamente. De las señales hormonales de saciedad las mejor estudiadas son las relacionadas con la CCK. La CCK circulante actúa sobre terminales sensoriales vagales que poseen receptores para esta hormona en su zona receptora en la mucosa del intestino alto. Algunos de estos quimiorreceptores vagales sensibles a la CCK circulante también poseen una región sensorial mecánico-receptora que se ubica en la submucosa, y por lo tanto, responden tanto a la distensión mecánica como a la CCK misma.

La CCK también ejerce efectos como una hormona que actúa centralmente sobre el área postrema, contribuyendo a la saciedad. El área postrema es uno de los órganos circumventriculares formados

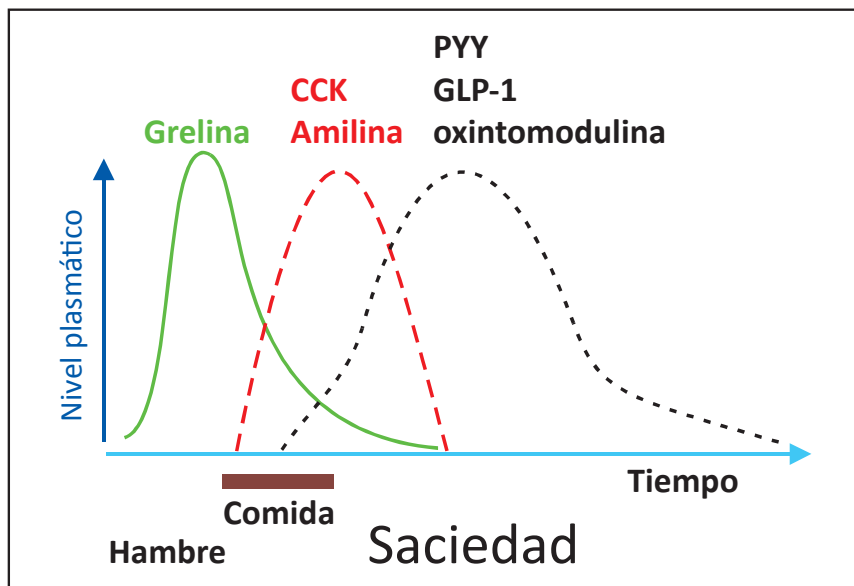


Figura 3. Esquema del curso temporal que siguen las señales hormonales de hambre o de saciedad antes, durante y después de una comida. Se indican solamente las señales más estudiadas, distinguiendo las señales más tempranas (CCK y amilina) de aquellas más tardías (PYY, GLP-1 y oxintomodulina).

por neuronas y están en contacto con el líquido cefalorraquídeo ventricular; además, estos núcleos cerebrales poseen una débil barrera hematoencefálica que es permeable a moléculas circulantes, a diferencia del resto del SNC que está relativamente aislado de las señales hormonales presentes en el plasma. Esto hace que el área postrema sea una de las regiones del cerebro que pueden detectar cambios químicos de la composición de la sangre y responden a señales humorales —típicamente péptidos— que no atraviesan la barrera hematoencefálica. El área postrema es un subnúcleo del núcleo del tracto solitario y básicamente establece las mismas conexiones axonales con el cerebro que el núcleo del tracto solitario. En otras palabras, las señales de saciedad —nerviosas y humorales— ingresan al SNC por el núcleo del tracto solitario y el área postrema y desde allí son distribuidas a los diferentes niveles del SNC que controlan la ingesta de alimentos y que, paralelamente, originan la percepción subjetiva de saciedad y probablemente también dan cuenta del placer de comer.

Además de la CCK, se han descubierto otras hormonas liberadas en distintos niveles del tubo digestivo

que por diversos mecanismos contribuyen en el corto plazo a la saciedad y la disminución de la ingesta. El péptido PYY, secretado por las células L a lo largo del intestino y particularmente en el colon y en menor medida en el íleon en proporción a las calorías ingeridas, es una importante señal de saciedad que en animales y seres humanos modula la actividad de regiones homeostáticas y corticolímbicas hedónicas, de modo que cuando el nivel plasmático de PYY es alto, los factores hedónicos de la comida predicen de mejor forma la ingesta. En cambio, cuando PYY está bajo, la activación hipotalámica predice la ingesta (9). PYY está siendo considerado como una opción terapéutica para controlar el peso de sujetos obesos.

Por su naturaleza —en cuanto a que son variables que dependen del contenido del tubo digestivo— las señales de saciedad controlan en el corto plazo la ingesta de alimento al influir negativamente sobre el tamaño de cada comida. Otras señales, más lentas y de efecto más duradero, regulan la magnitud de los depósitos de energía del organismo al afectar tanto la ingesta de comida como el gasto de energía.

Señales de largo plazo que controlan la ingesta

A diferencia del hambre y la saciedad, que influyen en la ingesta de alimento en un lapso de horas, existen señales originadas desde el organismo que informan al cerebro acerca de la magnitud de las reservas de energía existentes. Dado que, con mucho, el principal reservorio de energía de la economía del organismo es el tejido adiposo blanco, el cual sólo puede cambiar lentamente, las señales de adiposidad también actúan en tiempos más prolongados. Las señales que el organismo envía al cerebro respecto del nivel de las reservas son señales de largo plazo, materializadas mediante dos hormonas peptídicas: la leptina y la insulina. Para ambas hormonas su nivel plasmático medio en las 24 horas es directamente proporcional a la masa de tejido adiposo. Se diferencian en que los niveles de insulina cambian durante el día de acuerdo con su papel más conocido de hipoglicemiante al facilitar la entrada de glucosa a una amplia variedad de tejidos que excluyen al cerebro, mientras que los niveles plasmáticos de leptina son mucho más estables.

Solamente a principios de este siglo XXI se demostró que el tejido adiposo es una fuente importante de señales de tipo químico, además de los ácidos grasos que aporta al resto de la economía. Estas señales consisten en un gran número de moléculas peptídicas diferentes (cerca de 30) conocidas colectivamente como adipoquinas. Estas son moléculas proteicas y representan señales relacionadas estrechamente con procesos inflamatorios y de inmunidad de las cuales las más conocidas y estudiadas son el factor de necrosis tumoral (TNF)- α , entre otros factores de crecimiento, diversas interleuquinas (IL)-1 β , -6, -8, y -10, el angiotensinógeno, la adiponectina, la proteína C-reactiva, la omentina, la visfatina, la proteína que liga retinol (RBP)-4, etc. De ellas la más relevante para esta discusión es la leptina porque actúa directamente sobre el sistema nervioso central. Las adipoquinas son secretadas no sólo por los adipocitos del tejido adiposo blanco, sino también por otras células presentes en el tejido adiposo tales como células endoteliales, macrófagos y fibroblastos. Vale la pena mencionar aquí que en la obe-

sidad experimental en animales, al igual que en los seres humanos obesos, los niveles plasmáticos de estas adipoquinas, salvo la adiponectina, están aumentados. Ello, junto con los signos de inflamación evidentes en el propio tejido adiposo, como son la infiltración de macrófagos y la conocida comorbilidad entre la obesidad, el síndrome metabólico, las enfermedades cardiovasculares y la diabetes tipo 2, que han llevado a conceptualizar a la obesidad como un trastorno inflamatorio crónico, cuyos mecanismos etiopatogénicos exactos están en estudio.

El descubrimiento de la leptina, hormona secretada por los adipocitos blancos que pertenece a la familia de las adipoquinas, despertó grandes expectativas en cuanto a poder entender los mecanismos de control del balance energético y, por supuesto, alimentó esperanzas de una terapia farmacológica para la obesidad; sin embargo, estas expectativas no han fructificado. Una explicación clave es que los niveles plasmáticos elevados y mantenidos de leptina, al igual que los de insulina —que es justamente lo que ocurre en los pacientes con gran exceso de peso— inducen resistencia a ambas hormonas. La administración exógena de leptina disminuye la ingesta de alimento induciendo reducciones del tamaño, pero no de la frecuencia, de las comidas. Se demostró que la leptina acorta cada comida potenciando el efecto de la distensión gastroduodenal y de la CCK como señales de saciedad.

Es importante enfatizar que las señales de largo plazo, notablemente la leptina, además de regular la ingesta de alimento en plazos largos, también es un factor clave en la limitación del gasto de energía si las reservas están disminuidas. Así, los niveles bajos de leptina circulante, que señalan una caída de las reservas, promueven el ahorro de energía. Los síntomas del ayuno prolongado son mediados en gran parte por el efecto sobre el hipotálamo de los niveles bajos de leptina circulante. Los niveles bajos de leptina afectan indirectamente los niveles circulantes de las hormonas tiroideas, porque actúan sobre las neuronas TSH-positivas en el hipotálamo y por este motivo disminuyen el metabolismo basal y la temperatura corporal. Los niveles bajos de leptina

afectan a las neuronas hipotalámicas que producen los factores liberadores de hormona de crecimiento y de gonadotropinas y con ello desaceleran el crecimiento corporal y la función reproductiva. Interesantemente, los descensos de la leptina circulante son más efectivos que sus alzas en cuanto a modificar la fisiología del organismo; es posible que esta asimetría de los efectos de esta señal hormonal de adiposidad reflejen el que en nuestra historia de cientos de miles de años, la condición más probable haya sido la de escasez de alimento y no, como ocurre en la actualidad en buena parte del mundo, en que hay acceso a más comida de la necesaria.

Niveles cerebrales de integración de las señales homeostáticas en la regulación de la ingesta de comida

En este punto es conveniente entregar una visión global de los distintos niveles del sistema nervioso que son relevantes para entender, al menos en forma esquemática, cómo maneja el cerebro la ingesta de alimento. Se pueden distinguir tres niveles jerárquicos de organización del cerebro que regulan la ingesta y que en orden ascendente son el tronco encefálico, el hipotálamo y el cerebro anterior.

El tronco del encéfalo

Entre el mesencéfalo rostralmente y la médula espinal caudalmente, se encuentran el bulbo raquídeo y el puente de Varolio, donde residen grupos de neuronas que controlan en un nivel básico la ingesta de alimento. En animales descerebrados, en los que se interrumpió quirúrgicamente la comunicación entre el cerebro anterior (corteza cerebral y ganglios basales), el hipotálamo y el tronco encefálico, es posible observar que algún tiempo después de la cirugía, las ratas son capaces de alimentarse oralmente si el experimentador coloca la comida en su boca (siempre que el animal esté en ayunas). Estos animales descerebrados, que no sobreviven sin detallados cuidados de enfermería, pueden discriminar los sabores básicos de modo que rechazan lo amargo y lo ácido,

pero aceptan e ingieren comida con sabor dulce y muestran saciedad comparable a un animal intacto, aunque no son capaces de buscar comida activamente. En parte esta saciedad es mediada por neuronas del núcleo del tracto solitario que expresan el péptido similar al glucagón (Glucagon-like peptide, GLP)-1 como neurotransmisor central. Estos hallazgos indican que la maquinaria neuronal más elemental para el control del acto de comer, reside en el tronco encefálico, en particular en el núcleo del tracto solitario, que da cuenta de la parte sensorial (discriminación gustatoria y de saciedad) de esta conducta. La parte motora reside en los núcleos motor dorsal del vago y ambiguo, que manejan el tubo digestivo y sus glándulas anexas y también, importantemente, en redes neuronales presentes en la formación reticular adyacente al núcleo del tracto solitario, que contiene los programas motores que producen masticación, deglución y el rechazo de más comida.

El hipotálamo

En la región ventral del hipotálamo se localiza el núcleo arcuato (Figura 1), cuya barrera hematoencefálica es débil, por lo que sus neuronas están expuestas a señales hormonales peptídicas (entre las más importantes están la leptina, la insulina y la grelina) que participan en la regulación del balance de energía. El núcleo arcuato tiene dos tipos de neuronas que participan de manera opuesta en dicha regulación (Figura 4). Un tipo de neurona sintetiza y libera dos neurotransmisores peptídicos y anorexigénicos: la hormona melanocito estimulante (melanocyte stimulating hormone, MSH)- α , producto del gen que codifica la proopiomelanocortina (POMC) y el transcripto relacionado con la cocaína y la Anfetamina (cocaine and amphetamine-related transcript, CART). Estas neuronas son excitadas por la leptina y la insulina circulantes, de modo que a mayores niveles de estas señales de adiposidad, mayor es la actividad de estas neuronas del núcleo arcuato, y mayor es su efecto de disminuir la ingesta. El segundo tipo neuronal del núcleo arcuato, sintetiza y libera el ácido γ -amino isobutírico (γ -amino isobutyric

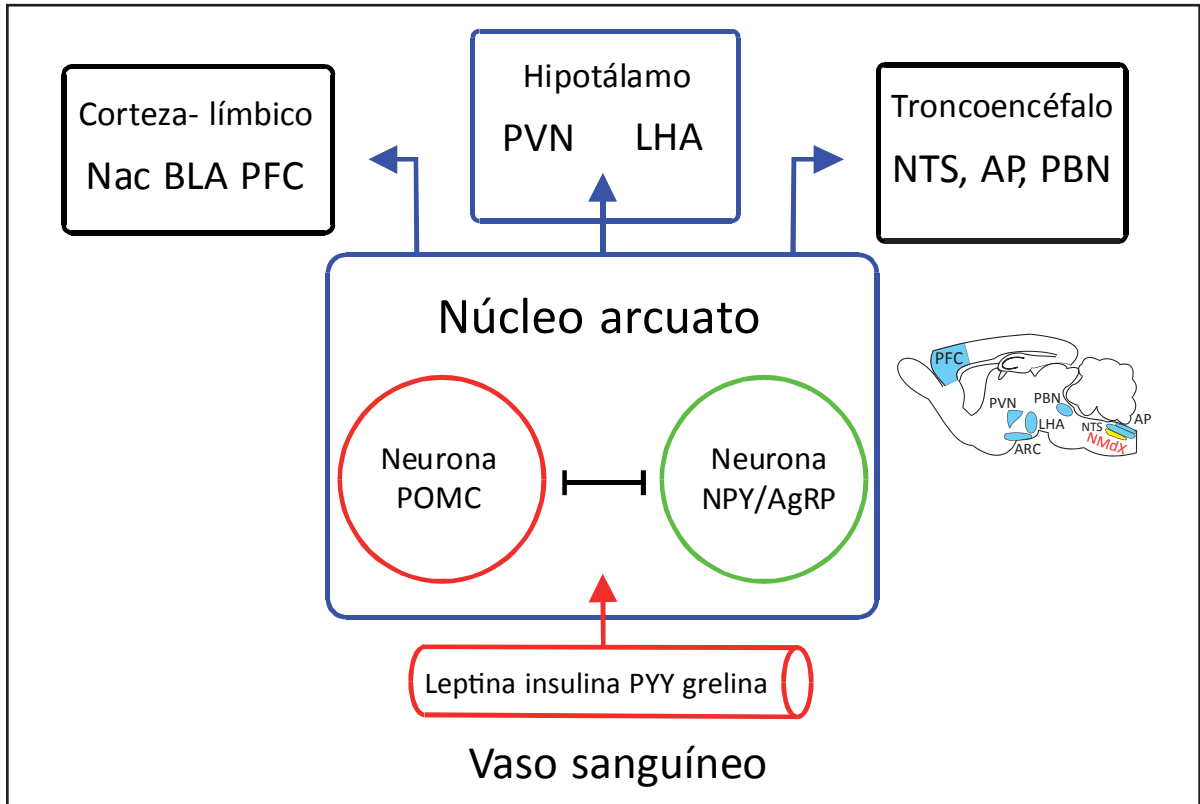


Figura 4. El núcleo arcuato del hipotálamo integra señales de hambre, de saciedad y del nivel de reservas grasas para determinar si se ingiere alimento. Los núcleos blanco que reciben señales neuronales desde el núcleo arcuato se indican. La corteza cerebral y el sistema límbico participan de los aspectos perceptuales, hedónicos y emocionales de la conducta alimentaria. La activación del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN) promueve el cese de la alimentación, mientras que la activación del área hipotalámica lateral (LHA) promueve la alimentación. Los núcleos del troncoencéfalo generan las conductas más elementales relacionadas con la ingestión de comida (ver texto). AP, área postrema; BLA, amígdala basolateral; Nac, núcleo accumbens; NTS, núcleo del tracto solitario; PBN, núcleo parabraquial del puente; PFC, corteza prefrontal.

acid, GABA), neurotransmisor inhibitorio con efecto rápido, además de otros dos neurotransmisores peptídicos, el neuropéptido (NP) Y y el péptido relacionado con agutí (agouti-related peptide, AgRP). El NPY es el más potente promotor agudo de la ingesta de comida que se conoce: inyecciones intracerebroventriculares de NPY inducen, incluso en animales saciados, una intensa búsqueda e ingesta de comida que dura desde minutos a horas. El AgRP tiene un efecto orexigénico aún más espectacular, ya que una inyección única en los ventrículos cerebrales produce en las ratas un aumento de la ingesta de alimento

que perdura por una semana. Se han descrito interacciones recíprocas entre los dos tipos de neuronas del núcleo arcuato, las que básicamente se inhiben mutuamente en cuanto a su actividad eléctrica y a la expresión de los respectivos neurotransmisores. Los neurotransmisores peptídicos AgRP y α MSH, actúan sobre el mismo receptor que la melanocortina tipo 4, siendo el primero un antagonista que facilita la ingesta de alimento al disminuir el efecto restrictivo tónico de este receptor. α MSH, en cambio, es un agonista endógeno del receptor de melanocortina tipo 4. Este receptor está presente en neuronas lo-

calizadas en regiones clave para la regulación de la ingesta, como son el núcleo paraventricular del hipotálamo, el área hipotalámica lateral y el núcleo del tracto solitario. En términos generales, la activación del área hipotalámica lateral promueve la ingesta de alimento mientras que la activación del núcleo paraventricular del hipotálamo favorece la abstención de ingerir alimento. Los mecanismos neurales por los cuales estas dos regiones del hipotálamo ejercen sus efectos orexigénicos o anorexigénicos se desconocen, pero se cree que estos efectos son mediados en parte por las conexiones nerviosas descendentes que establecen con las estructuras del tronco encefálico descritas arriba.

El cerebro anterior

En los seres humanos esta estructura incluye la mayor parte del cerebro y es la región que da cuenta de la percepción consciente del hambre y la saciedad, de la evaluación permanente del valor del alimento como recompensa frente a diferentes incentivos (por ejemplo ¿realmente quiero buscar comida o buscar un refugio?), de la generación e implementación de planes y estrategias para obtener recompensas o evitar castigos y, en general, de implementar conductas motivadas anticipando eventualidades y preparando al organismo y al cerebro para la conducta que decidió seguir.

La comida como placer

Enfrentados a un banquete, es decir, ante la abundancia de exquisiteces, no podemos reprimir fácilmente el llamado de la selva evolutiva y apelar al ascetismo de comer solamente lo que es homeostáticamente correcto. Recordemos el sesgo hacia las comidas dulces (que predice que ese alimento tiene preciosos carbohidratos), con lípidos, sal, o sabor a umami (que predicen más calorías, o algo naturalmente escaso como la sal o proteínas, respectivamente) que compartimos con otros mamíferos omnívoros. Es fácil imaginar que este impulso adicional, lo hedónico, que fue inventado por la evolución para

preservar nuestros genes, incrementa notablemente el querer buscar recompensas. En las comidas, el concepto de palatabilidad engloba tanto lo gustatorio como lo olfativo y táctil de la experiencia de comer. La palatabilidad de un alimento es susceptible de ser medida, incluso en animales de experimentación, y para ello se cuantifica no sólo la cantidad de comida ingerida y la velocidad con que ella ingresa en condiciones estables, sino también una serie de gestos faciales que son comunes a una variedad de mamíferos.

Se considera que los circuitos centrales que participan y generan las respuestas hedónicas son en parte comunes para una amplia gama de reforzadores primarios y secundarios, incluyendo aquellos relacionados con lo placentero de comer (10). Los reforzadores (positivos) cuya obtención produce placer se denominan recompensas, aunque hay que tener claro que en sí misma la recompensa es un conjunto de procesos neurobiológicos que se activan en relación con los reforzadores positivos. Se conoce bastante menos acerca de estos circuitos hedónicos que de aquellos otros relacionados con el reforzamiento de conductas y aprendizajes que dirigen las conductas motivadas e involucran notoriamente a los circuitos meso-córtico-límbicos y a la dopamina; esta última es liberada desde terminales axonales que se originan del área tegmental ventral del mesencéfalo y liberan la dopamina en la corteza prefrontal, núcleo accumbens, amígdala e hipocampo. Estudios muy recientes han identificado un conjunto de estructuras cerebrales que se activan o cuya activación aumenta en relación directa con el aumento del placer que produce el consumo de recompensas, especialmente bebidas o comidas dulces. Es decir, por el momento el placer ha sido estudiado experimentalmente en relación con la ingesta de alimento. Se ha identificado un conjunto de estructuras cerebrales, conectadas entre sí en forma directa (a través de una sinapsis) o indirecta (por medio de unas pocas sinapsis que presentan aumentos de la actividad neuronal y metabólica en paralelo con situaciones que normalmente se acompañan de sen-

saciones de placer); estas situaciones pueden ser medidas como manifestaciones hedónicas explícitas (en los seres humanos) o indirectas (en los seres humanos y en animales de experimentación). Las estructuras cerebrales participantes identificadas en los seres humanos y las ratas son la corteza orbitofrontal medial, la concha del núcleo accumbens (o estriado ventral) y en el núcleo pálido ventral y en el núcleo parabraquial del puente. En estas estructuras cerebrales, la administración de agonistas de los receptores a opiáceos o de receptores de endocannabinoides, incrementan el placer que producen los alimentos normalmente recompensantes, lo cual ha llevado a pensar en un papel clave en la neurofisiología del placer para las neuronas opioidérgicas y los receptores de opiáceos.

La corteza orbitofrontal está en la cima de las regiones cerebrales involucradas en la percepción de lo placentero. En la región medial de esta corteza, en primates que pueden seleccionar voluntariamente cual de varios jugos con variados sabores quieren beber, se han encontrado neuronas que codifican el valor hedónico de esas bebidas a través de su frecuencia de disparo de potenciales de acción. Las altas frecuencias de disparo estaban estrechamente asociadas con las respuestas hedónicas positivas que producía en estos monos un jugo cuyo sabor apreciaban. Respuestas similares fueron detectadas en neuronas del área hipotalámica lateral, región que recibe fuertes conexiones axonales de la corteza orbitofrontal. Estudios comparables en humanos, en que los voluntarios comían chocolate mientras se sometían a estudios de imagenología cerebral, revelaron que el aumento de la actividad de la corteza orbitofrontal medial se correlacionaba estrechamente con las manifestaciones subjetivas de placer que provocaba el chocolate. Si los sujetos seguían ingiriendo chocolate al punto que les llegaba a desagradar, la corteza orbitofrontal medial se desactivaba y en cambio aumentaba la actividad en regiones laterales de dicha corteza.

Los prebióticos y el control del balance de energía

Un interesante y promisorio avance reciente en el campo de la medicina y la nutrición ha sido el entendimiento más profundo de la relación entre el huésped, la microflora gastrointestinal, y la ingesta de alimentos (11, 12). La microflora intestinal está formada por cientos de diferentes especies de bacterias que en conjunto forman una biomasa que pesa alrededor de 1,5 Kg, con 10 veces más células que el huésped. Esta microflora intestinal varía considerablemente en composición y densidad en cada segmento del tracto intestinal dependiendo de la edad y de factores de la dieta y del medio ambiente. Las principales funciones de la microflora intestinal, que son metabólicas, tróficas y regulatorias de la inmunidad local y sistémica, no serán revisadas aquí. Sin embargo, hay fuertes evidencias de que existen diferencias cualitativas y cuantitativas en la composición de la microflora intestinal entre los individuos delgados y los obesos, ya que estos últimos tienen una población microbiana que favorece la capacidad de extraer energía de los hidratos de carbono indigeribles pero fermentables de la dieta.

La actividad de la microflora puede ser modulada por componentes específicos de la dieta llamados prebióticos. Los prebióticos son componentes indigeribles de la dieta, usualmente carbohidratos del tipo oligosacáridos en forma de fibra soluble. Los prebióticos fueron definidos por Gibson y Roberfroid (13), quienes los identificaron en 1995, como ingredientes de la dieta que, al ser fermentados selectivamente promueven cambios en la composición o la actividad de la microflora gastrointestinal que confieren beneficios para el bienestar y la salud del huésped. Los microorganismos típicamente modulados por los prebióticos son las bifidobacterias y los lactobacilos que habitan en el colon.

En el 2007 los prebióticos fueron definidos por un panel de expertos convocados por la FAO en Roma que los describió como componentes no viables (de los alimentos) cuyo consumo beneficia al huésped

porque modula su microbiota (14).

La llegada de nutrientes y/o prebióticos al colon activa el llamado “freno ileal” (15), que es un mecanismo que causa una disminución de la ingesta de comida y del apetito asociados con un enlentecimiento del vaciamiento gástrico y duodenal. Si dicho freno se activa crónicamente, como en el caso de algunos procedimientos de cirugía bariátrica (16), se produce una baja del peso corporal que se acompaña de aumento de los niveles plasmáticos de PYY, de GLP-1 y de la actividad vagal. Los ácidos grasos de cadena corta, como el acetato, butirato y propionato, cuya producción aumenta en el colon por la fermentación bacteriana de prebióticos, actúan sobre receptores de FFA en las membranas celulares del epitelio del colon. Dichos receptores se expresan en las células énterocromafines L, las cuales secretan PYY, y en los adipocitos blancos que secretan leptina. Mientras que estudios en animales apoyan en general la idea que la activación de receptores de FFA produce la disminución de la ingesta de alimento y del peso corporal, los estudios en humanos han sido menos consistentes (17).

Cani y colaboradores (18) estudiaron en voluntarios sanos los efectos de los prebióticos sobre la saciedad y sobre los niveles de hormonas intestinales. Encontraron que la administración de prebióticos por dos semanas, aumentó la fermentación bacteriana intestinal, disminuyó el apetito y mejoró las curvas postprandiales de glicemia. Esto se acompañó de aumentos de los niveles plasmáticos de GLP-1 y de PYY, lo cual puede contribuir a explicar la disminución del apetito. Otro estudio reciente en obesos (19) a quienes se suplementó la dieta con oligofructosa por tres meses mostró una reducción de la ingesta calórica y del peso corporal junto con una mejoría en la tolerancia a la glucosa. Estos cambios se asociaron con una disminución postprandial de la grelina y aumentos de la respuesta de PYY.

Estos trabajos de corta duración son promisorios en cuanto al tratamiento y prevención de enfermedades metabólicas relacionadas con alteraciones de la nutrición. Sin embargo se necesitan más estudios

multidisciplinarios y sistemáticos para entender los mecanismos involucrados en la compleja interacción entre el huésped, su microflora, y la dieta, de modo de usarlos para nuestro provecho y para confirmar su posible efectividad en el largo plazo (11, 17).

Factores no compensados

Agrupan una serie de circunstancias, muchas veces bastante inexplicables pero basadas en estudios empíricos en seres humanos en condiciones “naturales”, es decir, son observaciones hechas en condiciones de acceso libre a la comida y fuera del laboratorio (3). En este protocolo se les pide a las personas que anoten en una libreta el detalle de su consumo de alimento durante siete días consecutivos. Tienen que registrar además sus sentimientos y el contexto en que ingirieron cualquier alimento. Como aliciente se entrega a los sujetos un completo informe nutricional en relación con la dieta que reportaron, lo cual los motiva a cumplir con el registro de su ingesta. Este tipo de estudios ha identificado un número de factores no-compensados que influyen sobre la ingesta de alimentos en humanos.

Factores sociales

La conducta humana es afectada profundamente por influencias sociales y la ingesta de alimento no es una excepción. Ella aumenta en proporción con el número de comensales hasta casi duplicarse en promedio con siete o más personas compartiendo una comida. Incluso con un único acompañante la ingesta aumenta en cerca del 40%, especialmente si son personas cercanas (familiares y amigos).

La ingesta aumenta también si alguien come junto con una persona que ingiere más alimento, lo cual ha sido demostrado experimentalmente. Este efecto desencadenado por un “modelo” ha sido observado incluso en animales.

Factores ambientales

Hora del día

Aparte de las obvias variaciones circadianas de la ingesta, se ha medido en seres humanos pertenecientes a distintas culturas que el tamaño de cada comida tiende a aumentar a medida que el día progresa, de modo que el volumen ingerido es mayor en la tarde que al mediodía y a esta hora que en la mañana. Este efecto ha sido observado también en ratas y sugiere que las señales de saciedad son menos efectivas a medida que el día (o la noche para las ratas) avanza. Tal vez este efecto de la hora del día explica por qué si una gran proporción de la ingesta se hace en la mañana, la ingesta total diaria es menor.

Día de la semana

Durante los fines de semana los seres humanos aumentan el tamaño promedio de cada comida en un 11%, de modo que se observa un incremento de 8% en la ingesta total de calorías, incluyendo en ello el alcohol. Aparentemente el acrecentamiento de la interacción social explicaría buena parte de este efecto de los fines de semana.

Fases de la luna

Algunos estudios sugieren que en general hombres y mujeres ingieren alrededor de un 8% más de alimento en cada comida cuando hay luna llena que con luna nueva, independientemente del aumento nocturno de la iluminación.

Estación del año

Tanto los humanos adultos como los lactantes infantes presentan un incremento del 14% en la ingesta diaria en otoño, probablemente secundario a una disminución de la efectividad de las señales de saciedad. Este fenómeno se presenta incluso con las condiciones de iluminación y temperatura propias del vivir en ciudades modernas, lo que sugiere que este efecto se deriva de las condiciones estacionales de disponibilidad de alimentos que había cuando los humanos aparecimos en este planeta.

Factores psicológicos

Se ha demostrado en estudios en el laboratorio, usando instrumentos que miden la capacidad de auto-restringirse, que los seres humanos diferimos consistentemente en cuanto a poder limitar la ingesta de alimentos y que, en condiciones naturales, aquellos individuos con mayor capacidad de auto-restringirse comen menos y con menor variabilidad en cada comida.

La palatabilidad de los alimentos, que varía dependiendo de la historia personal y el grupo cultural en que se está inmerso, afecta positivamente la ingesta, llegando una comida con alta palatabilidad a inducir un aumento de un 40% en su tamaño.

Por cierto, frente a la inevitabilidad de varios de estos factores no compensados y que influyen a veces en forma considerable en la ingesta de alimento, lo que resta es conocerlos, saber cómo y cuánto intervienen, y tomar conciencia de que hay que tomar en cuenta su influencia.

Referencias

1. Hebb DO. Drives and the C.N.S. (Conceptual Nervous System). *Psychol Rev* 1955; 62: 243-254.
2. The Cambridge Encyclopedia of Human Evolution. Cambridge University Press: Cambridge. 1994.
3. de Castro JM. The control of eating behavior in free-living humans. In: Stricker EM, Woods SC (eds). *Neurobiology of food and fluid intake*. Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, 2004; 469-504.
4. Schwartz MW, Woods SC, Porte DJ, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000; 404: 661-71.

5. Campfield LA, Smith FJ. Blood glucose dynamics and control of meal initiation: A pattern detection and recognition theory. *Physiol Rev* 2003; 83: 25-58.
6. Seeley RJ, Woods SC. Monitoring of stored and available fuel by the CNS: implications for obesity. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4: 901-09.
7. Chaudhri O, Small C, Bloom S. Gastrointestinal hormones regulating appetite. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 2006; 361: 1187-209.
8. Schwarz NA, Rigby BR, La BP, Shelmadine B, Bowden RG. A review of weight control strategies and their effects on the regulation of hormonal balance. *J Nutr Metab* 2011: 237932.
9. Batterham RL, ffytche DH, Rosenthal JM, Zelaya FO, Barker GJ, Withers DJ, et al. PYY modulation of cortical and hypothalamic brain areas predicts feeding behaviour in humans. *Nature* 2007; 450: 106-09.
10. Berridge KC, Kringelbach ML. Affective neuroscience of pleasure: reward in humans and animals. *Psychopharmacology (Berlin)* 2008; 199: 457-80.
11. Hord NG. Eukaryotic-microbiota crosstalk: potential mechanisms for health benefits of prebiotics and probiotics. *Annu Rev Nutr* 2008; 28: 215-31.
12. Scarpellini E, Campanale M, Leone D, Purchiaroni F, Vitale G, Lauritano EC, et al. Gut microbiota and obesity. *Intern Emerg Med* 2010; 5 Suppl 1: S53-S56.
13. Roberfroid M. Prebiotics: the concept revisited. *J Nutr* 2007; 137: 830S-837S.
14. Piñera M, Asp NG, Reid G, Macfarlanes S, Morelli L, Brunser O, Tuohy K. *FAO Technical Meeting on Prebiotics. J Clin Gastroenterol* 2008; 42 Suppl 3 Pt 2: S156-59.
15. Maljaars PW, Peters HP, Mela DJ, Masclee AA. Ileal brake: a sensible food target for appetite control. A review. *Physiol Behav* 2008; 95: 271-81.
16. de Paula AL, Macedo AL, Prudente AS, Queiroz L, Schraibman V, Pinus J. Laparoscopic sleeve gastrectomy with ileal interposition ("neuroendocrine brake")--pilot study of a new operation. *Surg Obes Relat Dis.* 2006; 2: 464-67.
17. Darzi J, Frost GS, Robertson MD. Do SCFA have a role in appetite regulation? *Proc Nutr Soc* 2011; 70: 119-28.
18. Cani PD, Lecourt E, Dewulf EM, Sohet FM, Pachikian BD, Naslain D, et al. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 1236-43.
19. Parnell JA, Reimer RA. Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1751-1759.

Alteraciones de la absorción de nutrientes. Enfermedad celíaca

Sylvia Cruchet, Óscar Brunser

Fisiopatología de la malabsorción

La digestión y absorción de nutrientes es un proceso que integra a todas las estructuras y funciones del aparato digestivo y sus glándulas anexas; en dicho proceso participan además la circulación sanguínea intestinal y portal y los vasos linfáticos, que aportan a los tejidos gastrointestinales oxígeno, hormonas y factores de crecimiento. Los mecanismos incluyen el transporte de los productos terminales de la digestión y absorción desde el epitelio intestinal hacia el resto del organismo. Estos mecanismos de digestión y absorción sufren alteraciones causadas por diversas patologías, que tienen como resultado pérdidas excesivas de nutrientes por las heces (1).

La detección de la malabsorción de un nutriente indica que se ha producido un considerable deterioro del funcionamiento del aparato digestivo, que puede ser el resultado de una alteración de la anatomía e histología, de alteraciones de los procesos de digestión intraluminal o de la digestión terminal en la membrana de las microvellosidades, del transporte a través de dichas membranas, de la membrana basolateral de los enterocitos, o por la vía sanguínea portal o linfática. Esto indica también que en el aparato digestivo ya no queda capacidad de adaptación y de compensación y que en consecuencia, el organismo entra en un balance negativo para uno o varios nutrientes. Algunas de las patologías que llevan a esta situación son congénitas pero otras son adquiridas y aparecen enumeradas en la Tabla 1 (2,3). La malabsorción es definida por la pérdida a través de las deposiciones de nutrientes o compuestos de-

rivados de ellos en niveles por encima de sus valores normales de excreción, proceso que se puede acompañar o no de diarrea. El problema reside en definir cuales son los niveles normales de excreción fecal. El parámetro normal de excreción fecal fue definido en primer lugar para las grasas, ya que en diversas patologías su presencia aumentada es muy evidente. Por otra parte, prácticamente no hay excreción de hidratos de carbono y una parte considerable del nitrógeno fecal proviene de la microflora del colon. En las décadas de 1940 y 1950 se desarrollaron diversos métodos de medición y balance que permitieron establecer valores normales para los lípidos con una aproximación razonable. El método más aceptado es el de van de Kamer, pese a las limitaciones derivadas de la dificultad para determinar el punto exacto en que se completa la titulación de los ácidos grasos liberados por el proceso de hidrólisis y de que los cálculos no toman en cuenta de manera exacta los triglicéridos de cadena media y los ácidos grasos poliinsaturados (4). Posteriormente aparecieron el esteatocrito y el esteatocrito ácido que aunque prácticos, son mucho menos precisos (5). El uso de ácidos grasos y triglicéridos marcados con carbono 14 (^{14}C) permitió mediciones más precisas pero el empleo de un isótopo radioactivo con larga vida media representó un obstáculo que fue resuelto por los compuestos marcados con deuterio (^2H) o con carbono 13 (^{13}C), isótopos ambos no radioactivos (6). El ^{13}C permite un alto grado de precisión pero los sustratos utilizados son caros y las lecturas requieren: espectrómetros de masa, espectrómetros de infrarrojo, o espectrometría de ionización por infrarrojo

Tabla 1. Causas de malabsorción de nutrientes.

I. Alteraciones de la digestión intraluminal.

a) Patologías pancreáticas	
Insuficiencia pancreática exocrina	<ul style="list-style-type: none"> - Enfermedad fibroquística - Aquilia pancreática con neutropenia (Síndrome de Shwachman - Diamond) - Desnutrición proteica grave - Deficiencia congénita de lipasa - Deficiencia congénita de colipasa - Pancreatitis crónica - Pancreatitis tropical juvenil - Pancreatitis hereditaria - Síndrome de Johanson - Blizzard
b) Alteraciones hepáticas y de la producción y excreción de sales biliares	
Inmadurez hepática	<ul style="list-style-type: none"> - Esteatorrea del prematuro y el recién nacido - Atresia de la vía biliar intra o extrahepática - Hepatitis neonatal (diversas etiologías)
Colestasia	<ul style="list-style-type: none"> - Cirrosis hepática - Fibrosis quística
Defectos congénitos de la síntesis de sales biliares	<ul style="list-style-type: none"> - Diversas formas moleculares
Deconjugación de las sales biliares por bacterias en el lumen intestinal	<ul style="list-style-type: none"> - Contaminación microbiológica del lumen del intestino alto - Obstrucción intestinal subaguda y crónica - Alteraciones de la motilidad intestinal - Anastomosis después de resecciones - Síndrome del asa ciega - Otras alteraciones anatómicas
Alteraciones de la reabsorción de las sales biliares	<ul style="list-style-type: none"> - Cirugía de la enfermedad de Hirschprung - Resección del íleon - Fibrosis quística - Enfermedad de Crohn con compromiso ileal
Alteraciones de la microbiota del intestino alto	<ul style="list-style-type: none"> - Proliferación bacteriana en el yeyuno o el íleon (sprue tropical)
Infección por bacterias enteroadherentes	<ul style="list-style-type: none"> - Infección por E.coli enteroadherente
Enfermedad inflamatoria crónica	<ul style="list-style-type: none"> - Enfermedad de Crohn con compromiso del íleon y/o compromiso extenso del intestino delgado.

II. Patologías que inducen alteraciones de la histología de la mucosa intestinal.

a) Lesiones inespecíficas de la mucosa intestinal (con distorsión o borramiento de las vellosidades, alteraciones del epitelio superficial, infiltración del corion por linfocitos B y del epitelio por linfocitos T supresores/citotóxicos)	
<ul style="list-style-type: none"> - Enfermedad celíaca - Dermatitis herpetiforme - Giardiasis asociada con deficiencia de IgA - Kwashiorkor - Proliferación bacteriana en el intestino alto: sprue tropical - Alergia a proteínas de alimentos: leche de vaca, soya, huevo, trigo - Deficiencias de inmunoglobulinas asociadas con proliferación microbiana - Enteropatía autoinmune asociada con anticuerpos antiepitelio - Diarrea por administración de mofetil micofenolato en el trasplante de órganos sólidos 	
b) Lesiones histológicas específicas (la histología es diagnóstica)	
<ul style="list-style-type: none"> - Linfangiectasia intestinal con enteropatía perdutora de proteínas séricas y de linfocitos T - Enfermedad de Whipple (Tropheryma whipplei) - Enfermedad por inclusión de las microvellosidades - Enfermedad con formación de penachos de enterocitos (tufting) - Deficiencia de integrinas con desprendimiento de los enterocitos 	

III. Defectos de la digestión y del transporte de nutrientes a través de la membrana de las microvellosidades del epitelio intestinal (14).

a) Alteraciones primarias de enzimas, transportadores específicos o receptores	
Déficit específico de disacaridasas	<ul style="list-style-type: none"> - Deficiencia de sacarasa-isomaltasa - Deficiencia congénita de lactasa: Formas clásica (Holzel) y asociada con lactosuria y daño renal (Durand) - Deficiencia primaria de lactasa (forma adulta) - Deficiencia de trehalasa
Deficiencia del transportador SGLT1 de monosacáridos	<ul style="list-style-type: none"> - Malabsorción de glucosa y galactosa
Defectos de transportadores de aminoácidos	<ul style="list-style-type: none"> - Cistinuria - Enfermedad de Hartnup - Enfermedad del pañal azul - Intolerancia familiar a las proteínas - Síndrome de Löwe - Malabsorción de metionina - Síndrome de Joseph
Alteraciones de transportadores de vitaminas	<ul style="list-style-type: none"> B₁₂: anemias perniciosas juveniles Defectos del transportador de ácido fólico
Defecto del transportador de zinc	<ul style="list-style-type: none"> - Acrodermatitis enteropática
Déficit específico de intercambiadores	<ul style="list-style-type: none"> - Defecto del intercambiador Cl⁻/HCO₃⁻ - Defecto del intercambiador Na⁺/H⁺
Diarreas congénitas con malabsorción	<ul style="list-style-type: none"> - Mutación de la neurogenina-3 - Disgenesia enteroendocrina

b) Alteraciones secundarias del transporte de agua, electrolitos y nutrientes	
Anomalías funcionales secundarias asociadas con lesiones histológicas de cualquier causa	- Diarrea crónica postgastroenteritis
Malabsorción secundaria (generalmente asociada con diarrea prolongada)	- Intolerancia a los disacáridos - Intolerancia a los monosacáridos - Intolerancia a las proteínas - Intolerancia total a la nutrición oral - Diarrea intratable

IV. Defectos de la resíntesis intracelular de las lipoproteínas y los quilomicrones en el epitelio intestinal (14).

Alteraciones de la síntesis de apolipoproteínas y de la transferasa de ácidos grasos del retículo endoplásmico de los enterocitos	- A-beta-lipoproteinemia - Hipo-betalipoproteinemia - Bloqueo de la secreción de quilomicrones
Deficiencia de enteroquinasa	- Síndrome de hipoproteinemia, edema y desnutrición por falta de activación de la tripsina
Deficiencia de tripsinógeno	- Enfermedad de Townes (hipoproteinemia, edema)

(IRIS, infrared ionization spectrometry) también de costo elevado; estas metodías permiten calcular en forma indirecta no sólo la fracción excretada por las heces sino también determinar la fracción de ácidos grasos que son absorbidos y oxidados en el organismo, cuantificada a través de la excreción pulmonar del $^{13}\text{CO}_2$ comparada con la dosis total administrada (7, 8). Un inconveniente de estas mediciones en aire espirado es que requieren un número importante de muestras obtenidas a intervalos frecuentes durante 6 a 12 horas. Por otra parte, este método no es invasivo y no depende de la recolección de heces por tres o cinco días, proceso que incomoda a los pacientes.

La absorción de grasa, entendiéndose por este término la digestión y absorción de los triglicéridos, es un proceso que tiene un alto grado de eficiencia, ya que la capacidad para digerir y absorber triglicéridos es cercana al 97% para ingestas de hasta 150 gramos

por día o incluso cantidades mayores en los adultos, excretándose en circunstancia normales sólo una fracción pequeña. En los adultos normales no se excretan por la heces más de 3 gramos de triglicéridos en 24 horas. Un aspecto importante de esta evaluación es establecer cuál es el nivel de excreción que indica de manera indudable la presencia de malabsorción y por lo tanto, hace sospechar una patología digestiva. Estudios en pacientes celíacos, pediátricos y adultos, demostraron que la excreción fecal de 7 gramos o más de triglicéridos en 24 horas era un signo inequívoco de malabsorción cuando eran alimentados con una dieta mixta mientras que 5 a 7 gramos podían ser considerados como dudosos. Estos valores son similares en niños mayores de dos años (9, 10). En la actualidad la medición de la excreción fecal de grasa es poco utilizada en la práctica clínica. El estudio de la malabsorción de proteínas y sus componentes requiere el empleo de proteínas o

aminoácidos marcados con ^{13}C o con ^{15}N ; este último también es un isótopo estable cuyos principales inconvenientes son tecnológicos y semejantes a los del ^{13}C : el precio del sustrato y el requerimiento de equipos de alto costo para su medición. El uso de ambos isótopos permite evaluar en condiciones fisiológicas el destino del nitrógeno proteico ingerido; de esta manera se pudo demostrar que más del 95% de la proteína ingerida es absorbida en el intestino proximal. Esta proporción es modulada por diversos factores entre los que se cuentan la forma de la molécula proteica, ya que las proteínas globulares son en general más resistentes a los enzimas digestivos, los efectos denaturantes de la cocción que modifican la forma molecular, la presencia de factores antinutricionales que inactivan las enzimas y por último, la presencia de algunos aminoácidos como la prolina y la hidroxiprolina, cuyos enlaces peptídicos son poco accesibles a las proteasas pancreáticas. La fracción de las proteínas de la dieta que no es absorbida en el intestino delgado es fermentada por la microflora del colon con incorporación de los aminoácidos a las bacterias residentes. Esto retarda la excreción a través de las heces de la marca no absorbida y arroja valores de excreción fecal más bajos si el período de recolección fecal es breve. La mayor parte de la proteína detectable en las deposiciones proviene de cuerpos bacterianos que representa aproximadamente 40% de la masa fecal, y de células colónicas descamadas (8).

La presencia de defectos de la absorción de aminoácidos fue detectada durante el estudio de enfermos cuya sintomatología era causada por carencias de aminoácidos esenciales pese a los aportes adecuados por la dieta; este fenómeno sólo era explicable por la existencia en la membrana de las microvellosidades de defectos de transportadores específicos para aminoácidos libres. Los aminoácidos no absorbidos llegan al colon y son metabolizados por la microflora residente, proceso que resulta en la producción de metabolitos que son absorbidos por los colonocitos y aparecen en la orina, donde pueden ser detectados para fines diagnósticos (11).

Los defectos de la actividad de las disacaridasas, ya sean congénitos o adquiridos, se asocian con diarrea ácida debida a la fermentación en el colon del azúcar no absorbido, donde se genera además un efecto osmótico que atrae agua y electrolitos hacia el lumen. Se han descrito asimismo defectos de los transportadores de monosacáridos, como es el caso de SGLT-1 para la glucosa y la galactosa, que se deben a mutaciones que afectan ya sea su síntesis, la glicosilación y el plegamiento de la molécula del enzima o su inserción en la membrana de las microvellosidades (12).

La microflora del colon tiene una considerable capacidad para metabolizar y/o fermentar nutrientes no absorbidos, sean estos hidratos de carbono, lípidos o aminoácidos. Esto genera metabolitos que ejercen efectos osmóticos, estimulantes de la secreción de agua y electrolitos, bloquean funciones metabólicas del epitelio colónico o actúan como mutágenos o carcinógenos a nivel local o distante. La deconjugación de algunas moléculas por la flora bacteriana permite su reabsorción y el funcionamiento de circuitos entero-hepáticos que las hace recircular repetidamente (13).

Las alteraciones de la velocidad del tránsito intestinal, tanto disminuciones como aceleraciones, pueden resultar en la aparición de malabsorción; los ejemplos más típicos son el síndrome del asa ciega y la diarrea causada por tumores de células enteroendocrinas (3).

Al evaluar las causas de malabsorción se puede describir en forma esquemática que pueden ser debidas a alteraciones de los procesos de digestión que ocurren en el lumen del intestino, o que alteran la integridad o el funcionamiento del epitelio intestinal o la lámina propia de la mucosa y por último, el transporte de los productos de toda esta actividad hacia el resto del organismo por las vías venosa portal o linfática. En algunas de estas patologías intervienen varios mecanismos simultáneamente. De acuerdo con los criterios delineados anteriormente, la siguiente es una clasificación de las patologías asociadas más frecuentemente con la presencia de malabsorción (Tabla1).

Diagnóstico de la malabsorción

La información necesaria para hacer el diagnóstico de los trastornos de la digestión y la absorción depende de una historia clínica y un examen físico cuidadoso y del uso con buen juicio de los estudios de laboratorio.

Historia clínica

Los síntomas de diarrea, pérdida de peso y crecimiento insuficiente no sólo se encuentran en la malabsorción. Muchas patologías no gastrointestinales, como las infecciones urinarias o los trastornos del sistema nervioso central, producen síntomas similares. Sin embargo, a menudo se puede postular una etiología en base a la información derivada de una historia clínica completa y precisa. Los aspectos más importantes de la historia clínica son:

1. Se debe obtener la descripción cronológica de todos los síntomas (p. ej., fiebre, diarrea o dolor abdominal), la relación de éstos con los cambios en el modo de vida o con el estrés e información respecto del uso de antibióticos o de cualquier otro medicamento. También se debe tomar en cuenta la exacerbación de problemas médicos crónicos.
2. Es importante evaluar cómo era el apetito, la actividad y los hábitos de sueño antes de la aparición de los síntomas digestivos.
3. Es necesario conocer los hábitos alimentarios en cuanto al tipo de nutrientes y su cantidad. Se debe tomar nota de los cambios realizados en la alimentación con la intención de resolver los síntomas. El médico debe confirmar si se han prescrito restricciones prolongadas de la alimentación tendientes a controlar la diarrea. Estas restricciones pueden llegar a provocar desnutrición e incluso prolongar la diarrea aún por más tiempo.
4. Se deben obtener los antecedentes perinatales. Si los signos y síntomas están presentes desde el nacimiento, tal vez el trastorno sea congénito, pero eso no descarta que la malabsorción pueda ser ad-

quirida. El antecedente de cirugías abdominales de algún tipo sugiere causas anatómicas del problema, como estenosis intestinal u obstrucción parcial del intestino delgado.

5. El antecedente de infecciones a repetición despierta la sospecha de que la malabsorción sea secundaria a fibrosis quística (FC) o a algún síndrome de inmunodeficiencia.

6. Averiguar si el paciente o algún miembro de su familia inmediata han viajado en fecha reciente a regiones tropicales o subdesarrolladas. Si el niño asiste a una guardería, las infecciones del tipo de la giardiasis pueden estar causando la malabsorción.

7. Muchos trastornos de mal digestión y de malabsorción afectan otros órganos y sistemas, además del aparato digestivo. Los síntomas generales que no se relacionan directamente con el tubo digestivo (malestar, edema, fiebre, retraso de la menstruación, amenorrea secundaria o pérdida de peso) hacen pensar en la presencia de una enfermedad inflamatoria intestinal o de una hepatopatía incipiente. Las hemorragias, hematomas o púrpura pueden ser secundarios a los estados carenciales que acompañan a la malabsorción.

8. Se deben obtener los antecedentes patológicos familiares, porque otros miembros de la familia podrían tener signos y síntomas similares. Esto indica que quizá se trate de una enfermedad determinada genéticamente o de un cuadro infeccioso (15).

Examen físico

Los signos físicos suelen ser paralelos a la gravedad y cronicidad de la malabsorción. En los casos de malabsorción leve, la exploración física puede resultar normal o mostrar anomalías sutiles. Durante el examen se observa si el niño está deprimido o en actitud pasiva, lo cual es frecuente en la desnutrición moderada o grave. Muchos niños crónicamente desnutridos también muestran signos de retraso de su desarrollo. Son partes fundamentales del examen físico la medición precisa de la talla, el peso y la circunferencia craneana, el cálculo del peso para

la talla y la construcción de una curva de crecimiento. Las curvas de crecimiento del peso para la talla proporcionan información valiosa para la evaluación de los problemas de crecimiento secundarios a la nutrición insuficiente provocada por los trastornos de la digestión y la absorción. En el examen segmentario de la cabeza, cara y cuello pueden ser evidentes los signos de carencias de vitaminas liposolubles o hidrosolubles (xeroftalmía en la deficiencia de vitamina A, o queilitis y lengua lisa en la carencia de vitaminas del complejo B). La exploración de tronco, glúteos y extremidades puede dar una impresión subjetiva de pérdida de masa muscular o la disminución de los depósitos de grasa. La medición del grosor de los pliegues cutáneos y los perímetros de los miembros da una idea más precisa del estado de la masa muscular y de los depósitos de grasa.

El examen del corazón puede revelar aumentos de la frecuencia cardíaca ocasionados por la existencia de anemia, o de la bradicardia consecutiva a la deficiencia de proteínas y calorías. La distensión abdominal puede estar reflejando la infiltración grasa del hígado, la acumulación de ascitis o la pérdida de masa de los músculos abdominales; esto puede estar relacionado con la existencia de desnutrición calórico proteica. Puede haber hipersensibilidad en el área hepática consecutiva a infiltración grasa o a insuficiencia cardíaca congestiva. En las hepatopatías crónicas con hipertensión portal y ascitis es posible encontrar prominencia de las venas abdominales, esplenomegalia o ascitis.

En los niños mayores con malabsorción crónica es frecuente el retraso en la aparición de los caracteres sexuales secundarios. Tanto en la enfermedad celíaca como en la enfermedad inflamatoria intestinal se observa palidez del lecho ungueal por anemia y dedos en palillo de tambor. Las artralgiyas o el aumento de volumen y eritema de las articulaciones (artritis) pueden ser manifestaciones extraintestinales de una enfermedad inflamatoria intestinal. En los estados carenciales de vitaminas liposolubles y de oligoelementos se observan alteraciones del color y la textura de la piel y del cabello. En los pacientes con

hipocalcemia es posible que en el examen neurológico se encuentren reflejos anormales o espasmos musculares. También puede haber signos cerebelosos anormales en las carencias de vitamina E o de vitaminas del complejo B (15).

Estudios de laboratorio

Los estudios de laboratorio pueden ayudar a confirmar la presencia de alteraciones de los procesos digestivos y/o malabsorción y, lo que es más importante, contribuir a identificar la etiología. Es posible detectar qué vitaminas u oligoelementos son específicamente deficitarios y medir sus concentraciones en el plasma durante el tratamiento con suplementos. Estos exámenes se dividen en tres categorías de acuerdo a su disponibilidad, costo y penetrancia.

Pruebas iniciales de laboratorios

Exámenes en deposiciones. La detección de sangre oculta y leucocitos fecales en una muestra de heces apunta hacia un proceso inflamatorio de la porción inferior del colon. La disminución del pH fecal puede reflejar maldigestión o malabsorción de hidratos de carbono en el intestino delgado y su fermentación subsecuente por las bacterias del colon. Su malabsorción clínicamente evidente se relaciona con la presencia de sustancias reductoras en las muestras de deposiciones. Una manera rápida y simple para detectar la presencia de malabsorción de grasas es realizar una prueba cualitativa de su excreción por las heces (esteatocrito) o una tinción con Sudán III para glóbulos grasos.

Exámenes de diagnóstico en la evaluación de la maldigestión y la malabsorción

Estudios iniciales. Exámenes de deposiciones para detectar sangre, leucocitos, sustancias reductoras y toxinas de *Clostridium difficile*; examen coproparasitológico y coprocultivos para detectar patógenos (16).

Estudio hematológico completo. Electrolitos en el plasma, nitrógeno ureico en la sangre, creatinemia, calcemia, fósforo, albuminemia y proteínas séricas totales. Examen completo de orina y urocultivo (16b).

Estudios de segunda fase. Medición de electrolitos en el sudor, medición de la excreción de hidrógeno en el aire espirado después de una sobrecarga de hidratos de carbono, medición de las concentraciones de folato, vitamina B₁₂ y hierro en el suero, medición de la concentración de alfa-1-antitripsina en las deposiciones. Estudios de la excreción y balace de grasa en las deposiciones. Determinación y cuantificación de anticuerpos antiendomiso y antitransglutaminasa (17-23).

Estudios de tercera fase. Concentración plasmática de vitaminas liposolubles: vitamina A, 25-hidroxivitamina D y vitamina E.

Estudios radiológicos con medio de contraste. Estudio del esófago, estómago y duodeno y tránsito intestinal y del colon por enema.

Estudios especializados. Biopsia de la mucosa del intestino delgado para estudio histológico y medición de la actividad de enzimas en la mucosa. Biopsia de la mucosa rectal. Test de Schilling para la medición de la absorción de la vitamina B₁₂. Evaluación de pigmentos y ácidos biliares en suero y orina. Pancreatografía retrógrada endoscópica. Prueba de provocación de la secreción pancreática. Prueba de excreción de la bentiromida (24).

La enfermedad celíaca

La enfermedad celíaca (EC), llamada también enteropatía por sensibilidad al gluten, es una intolerancia intestinal permanente al gluten del trigo y a las proteínas relacionadas de la cebada y el centeno presentes en la dieta, que produce lesiones de la mucosa intestinal y manifestaciones extraintestinales en individuos genéticamente susceptibles.

Antecedentes históricos

La primera descripción precisa de la EC fue realizada por Samuel Gee en el Reino Unido y por Christian Herter en los Estados Unidos, ambos en 1888. Pero no fue sino hasta principios del decenio de 1950 cuando Willem Karel Dicke, en Holanda, estableció la participación de la harina de trigo y de centeno en la patogenia de la enfermedad e identificó a la proteína llamada gluten como el factor causal presente en estos cereales (1,24,25).

Proteínas de cereales y factores ambientales en la patogenia de la enfermedad celíaca

Proteínas de cereales y enfermedad celíaca

Los cereales tóxicos para los pacientes con EC son el trigo, la cebada y el centeno; el arroz y el maíz no afectan a los pacientes y sirven de sustitutos de estos cereales en su alimentación. Persiste la controversia en torno a la toxicidad de la avena; en fecha reciente se demostró que el uso de este cereal como parte de la dieta libre de gluten no tenía efectos negativos en los pacientes adultos en remisión y no interfirió con la curación de la mucosa de pacientes en quienes se acababa de establecer el diagnóstico. Sin embargo, el descubrimiento de que la avenina parece ser capaz de activar la inmunidad mediada por células en biopsias de la mucosa intestinal cultivadas *in vitro*, obtenidas de pacientes con esta enfermedad, así como en pruebas *in vivo* en la mucosa rectal junto con el temor de que pequeñas cantidades de gliadina puedan estar contaminando la avena, significa que se debe ser cauto antes de incluir este cereal en la dieta de los pacientes celíacos.

Los cereales pertenecen a la familia de las gramíneas. Los otros cereales que son nocivos para los pacientes con enfermedad celíaca (cebada, centeno y, en menor grado, avena) tienen una relación taxonómica estrecha con el trigo, mientras que los cereales

inocuos (arroz y maíz) son taxonómicamente distintos. El endosperma de las semillas del trigo, tiene una cantidad de diferentes proteínas que, de acuerdo con su extractabilidad y solubilidad en diferentes solventes, se clasifican en albúminas, globulinas, gliadinas y gluteninas según los criterios de Osborne y Mendel. La toxicidad del trigo reside en la gliadina y la toxicidad de las especies de cereales distintas del trigo, se relaciona con gran probabilidad con fracciones de prolaminas equivalentes a las gliadinas. Estas últimas son cadenas únicas de polipéptidos cuyo peso molecular varía entre 30.000 y 75.000 Daltons; tienen baja carga eléctrica y un contenido muy alto de glutamina y prolina. De acuerdo con su movilidad electroforética, se clasifican en grupos denominados alfa, beta, gama y omega. Una clasificación más reciente las denomina tipos alfa, gama y omega, en función del terminal N de su secuencia de aminoácidos. La gliadina A constituye una proporción importante de la gliadina alfa y se sabe que esta sustancia activa la EC en los sujetos susceptibles; se ha determinado la secuencia primaria de sus aminoácidos, pero la secuencia o secuencias de aminoácidos que provocan la enfermedad todavía no se conoce por completo. En sistemas de cultivo de órganos *in vitro*, parece ser que las secuencias de aminoácidos 31 a 43 y 44 a 45 de la molécula de gliadina A son inmunogénicas. No cabe duda de que la metodología *in vitro*, aunque útil, debe estar acompañada de pruebas de confrontación *in vivo* con la presunta proteína o con la secuencia de aminoácidos causales. De hecho, se ha demostrado que en la mucosa intestinal de los pacientes con EC, ocurren cambios histológicos cuando se les confronta con 200 mg de un péptido sintético que contiene la secuencia 31 a 49 de la gliadina A. Después se observó que las secuencias 31 a 43 y 44 a 45, también inducen cambios cuando se las instila *in vivo* en el yeyuno de pacientes con EC. Están avanzando investigaciones que en diferentes laboratorios estudian cómo se unen estos péptidos a la molécula del antígeno leucocitario humano DQ2 (human leukocyte antigen-DQ2, HLA-DQ2) relacionada con la enfermedad celíaca (25-31).

Factores del medio ambiente

La relevancia de posibles factores ambientales distintos del trigo en la EC, es sugerida por cambios en la frecuencia de la enfermedad relación con espacios de tiempo y lugar y la discordancia de 30% entre gemelos homocigotos. Las prácticas de alimentación parecen ser importantes; el efecto protector del amamantamiento ha sido documentado en estudios de casos y controles. En fecha reciente algunos estudios escandinavos han señalado que el tipo y la cantidad de cereales introducidos en la alimentación de los lactantes tienen efectos profundos en las características clínicas y la frecuencia real de la enfermedad.

Entre los factores ambientales que podrían contribuir a la manifestación de la EC, también se deben tomar en cuenta factores infecciosos. El adenovirus serotipo 12 es de interés particular porque una de sus proteínas (E1b) tiene una secuencia de aminoácidos muy parecida a la de un péptido del gluten que posee actividad antigénica. La infección por el virus y la posterior exposición a la gliadina podrían desencadenar la enteropatía a consecuencia de una reactividad inmunitaria cruzada. Sin embargo, las pruebas experimentales están lejos de ser concluyentes (32,33).

Genética de la enfermedad celíaca

Estudios en familias

La susceptibilidad a la EC está determinada en grado considerable por factores genéticos. Así lo indica la presentación de múltiples casos en familias. La prevalencia de la EC entre los parientes en primer grado de una persona afectada es cercana al 10%. Más aún, se ha encontrado que hasta 75% de los gemelos homocigotos tienen concordancia en relación con la enfermedad. El índice aproximado de concordancia entre los hermanos con idéntico HLA es de 30%, lo que indica que gran parte de la susceptibilidad genética se localiza en la región que codifica el HLA en el cromosoma 6 (34).

Marcadores genéticos

La relación más estrecha de la EC se refiere a los marcadores HLA de clase II D. Los genes con los que se relacionan las regiones de clases I y III son consecuencia de desequilibrios de las uniones. En fecha reciente, pruebas convergentes originadas de poblaciones diferentes sugieren que la relación primaria de la EC reside en el heterodímero DQ α/β codificado por los genes DQAJ *050J y DQB/*020J, que se localizan en cis (en sujetos DR3 y DQ2 positivos) o en trans (en individuos heterocigotos DR5 DQ7/DR7 DQ2) (35). Esta molécula DQ está presente en una proporción de 95% o más en los pacientes con EC en comparación con 20 a 30% en las personas del grupo control. Los datos disponibles sobre pacientes con EC DQ2 negativos, indican que casi invariablemente expresan los alelos HLA DR4 DQw8 (36). Se ha sugerido un efecto de dosis del gen porque se ha observado que los sujetos portadores de una doble dosis de DQB J *0201, tienen mayor riesgo de desarrollar EC (36). El mecanismo más probable para explicar la relación con los genes HLA de clase II, es que la molécula DQ liga un fragmento de péptido de un antígeno involucrado en la patogenia de la EC para presentarlo a las células T.

Otros genes no HLA podrían conferir susceptibilidad a la EC. Tomando en cuenta la importancia de la respuesta inmunitaria en la patogenia de esta enfermedad, los genes probables serían aquéllos que tienen influencia en la respuesta de las células T. Entre ellos se encuentran los genes que codifican los receptores de las células T (T cell receptor, TCR), involucrados en el procesamiento o el transporte de péptidos dentro de la célula y los genes que controlan la síntesis de citoquinas o receptores de citoquinas. A este respecto, un alelo más raro del factor de necrosis tumoral (tumor necrosis factor, TNF)- α , promotor de polimorfismo de región, se relaciona con la EC. Se espera que del análisis del genoma humano se genere más información respecto de los genes relacionados con la EC, investigaciones que hoy en día se llevan a cabo en varios laboratorios que estudian a pares de hermanos afectados (35-37).

Epidemiología

La frecuencia publicada de la EC sintomática es de 1 en 1.000 nacidos vivos, con márgenes de 1 en 250 en Suecia y 1 en 4.000 en Dinamarca. La prevalencia parece ser más alta en las mujeres que en los varones. La frecuencia es mayor en Europa que en los Estados Unidos, aún en poblaciones con antecedentes genéticos similares. En las campañas de detección llevadas a cabo entre grupos en riesgo (por ejemplo en parientes en primer grado o en pacientes afectados por patologías que se sabe están relacionadas con EC) se han identificado casos asintomáticos y también en individuos aparentemente sanos. En donantes de sangre se ha encontrado una prevalencia de EC asintomática de hasta 1 en 166. Catassi y colaboradores evaluaron la prevalencia de la EC subclínica o silente en escolares asintomáticos de Italia y encontraron que era de 3,28 en 1.000 (38-40).

Not y colaboradores descubrieron en Estados Unidos la presencia de anticuerpos antiendomisio en 8 de 2.000 donantes de sangre supuestamente sanos. Si se confirma en ellos el diagnóstico preliminar de EC, la prevalencia de esta enfermedad sería similar a la que se observa en Europa. Se han encontrado variaciones relevantes de su prevalencia no sólo en relación con el lugar geográfico sino también en el tiempo. Algunas de estas variaciones pueden ser consecuencia de factores ambientales distintos del consumo de gluten. Para explicar la evidente disminución de la frecuencia de EC en ciertas áreas geográficas se han tomado en cuenta cambios en las prácticas de alimentación de los lactantes, como la alimentación prolongada al pecho materno, menor antigenicidad de las fórmulas que se utilizan para alimentar a los lactantes y la introducción más tardía del gluten en la alimentación. Sin embargo, parece ser que en los países donde se ha observado una disminución evidente de la EC, la enfermedad realmente no está desapareciendo sino que está cambiando la forma en que se manifiesta clínicamente. En Finlandia esta enfermedad rara vez se diagnostica antes de los cinco años de edad y la mayor parte de los casos son detectados en alumnos de la educación primaria o en adolescentes (40b,41).

Patogenia

Hoy se acepta en general que la EC es una afección del intestino delgado mediada por procesos inmunarios. La lesión de la mucosa muestra características que indican que existe una sobreestimulación tanto de la inmunidad humoral como de la celular. Las analogías con los modelos *in vivo* e *in vitro* en los que se ha inducido hipersensibilidad retardada apoyan la hipótesis de que los mecanismos de inmunidad mediada por células cumplen un papel clave en la inducción del daño a la mucosa. El aplanamiento de la mucosa del intestino delgado ocurre también durante la evolución de la lesión intestinal de la reacción del injerto contra el huésped o del rechazo de los trasplantes de intestino delgado. El paralelismo que existe entre estos modelos y la mucosa de la EC, en la cual una secuencia parecida de sucesos activados por la gliadina provoca el aplanamiento de la mucosa, da motivo para pensar que el mecanismo inmunopatológico es el mismo o muy similar. La mayoría de los autores respalda la hipótesis de que la activación de las células T de la lámina propia de la mucosa por células que presentan antígenos restringidos HLA de la clase II, es uno de los primeros fenómenos provocados por la gliadina. El reconocimiento de los antígenos por los linfocitos T da lugar a la regulación al alza (up-regulation) de la expresión del receptor de la interleuquina (IL)-2 (interleukin-2, IL-2) y a la producción de citoquinas. En la mucosa intestinal de los pacientes con EC que no están en tratamiento con una dieta sin gluten, se observa un incremento significativo del porcentaje de células mononucleares que expresan el receptor IL-2 (células CD25+) (42).

También existe una regulación al alza de la molécula de adhesión intercelular de tipo 1 (intercellular adhesion molecule type 1, ICAM-1) que es necesaria para que las células T se adhieran a los sitios de inflamación. En fecha reciente se ha obtenido información que caracteriza a las células T CD4+ CD25+ reactivas a la gliadina, que han sido clonadas *in vitro* a partir de muestras de mucosa del intestino delgado obtenidas por biopsia de pacientes con EC que

recibieron una carga de gliadina. Se observó que estas células T secretaban concentraciones muy altas de interferón- γ , las que frecuentemente también secretaban TNF- α (20). Algunos clones de células T también secretaban IL-4, 5 y 6, de manera que se requieren más estudios para establecer las localizaciones y las etapas de la participación de las diferentes citoquinas en la patogenia de las lesiones de la mucosa del tubo digestivo.

La otra característica morfológica importante de la mucosa intestinal en la EC, es la infiltración del epitelio por linfocitos. Más de 90% de los linfocitos intraepiteliales (intraepithelial lymphocytes, IEL) expresa CD8 y menos de 10% expresa CD4. Los IEL T de la mucosa normal pueden expresar ya sea la forma α/β (90% de las células) o la forma γ/δ (10% de las células) del gen receptor para células T (TCR). En la mucosa de los pacientes celíacos, el porcentaje de IEL TCR $\gamma/\delta+$ se encuentra elevado tanto en quienes reciben tratamiento con el régimen sin gluten como en quienes no lo reciben, pero se desconoce de qué manera esto influye en la reacción a dicha proteína (42).

En la EC no tratada, la inmunidad humoral también está estimulada. La mucosa muestra un incremento importante del número de células plasmáticas que secretan inmunoglobulina (Ig) A y la expresión de cadenas J es alta. Esta observación coincide con el incremento de la producción de IgA secretoria observada en cultivos de órgano de biopsias de mucosa de enfermos celíacos sin tratamiento. Todos estos cambios, junto con el considerable incremento de la producción de IgM por la mucosa y la síntesis aumentada del componente secretor epitelial inducida por las citoquinas, reflejan la estimulación de la inmunidad secretoria. Resulta particularmente intrigante la producción de autoanticuerpos activada por la gliadina que están dirigidos contra proteínas no colágenas de la matriz extracelular (anticuerpos antirreticulina o antiendomiso). Aún no ha sido posible identificar el o los autoantígenos, pero la transglutaminasa es uno de los posibles candidatos. Tampoco se sabe si estos autoanticuerpos intervienen en la patogenia del daño a la mucosa, en la expre-

sión clínica de la sensibilidad al gluten o en ambas situaciones.

Algunas de las manifestaciones extraintestinales de la EC podrían ser explicadas por el desarrollo de autoanticuerpos específicos de órgano. La activación de la inmunidad mediada por células en la mucosa intestinal puede ser reproducida *in vitro* utilizando cultivos de órgano de mucosa de enfermos tratados. En este sistema, un digerido de gliadina es capaz de inducir la expresión precoz de moléculas de HLA-DR en las células epiteliales seguida de la activación de las células T. Los linfocitos CD4+ que muestran signos de activación migran a los compartimientos superiores del corion de la mucosa, mientras que los linfocitos CD8+ infiltran el epitelio. Fenómenos similares (activación de las células T, infiltración del epitelio por linfocitos) ocurren también en muestras de mucosa rectal de pacientes con EC cultivadas *in vitro* con gliadina (43,44).

Tal vez estos modelos resulten útiles para clarificar los mecanismos patogénicos específicos que llevan al desencadenamiento de la enfermedad y para ayudar a definir nuevas modalidades terapéuticas.

En conclusión, la evidencia disponible sugiere que en la EC hay activación de la inmunidad de la mucosa en procesos dependientes del gluten. Sin embargo, en la mucosa de los pacientes celíacos no sólo existe una respuesta inmunitaria anormal, mediada por células, sino que el sistema inmune local también produce un exceso de inmunoglobulinas. Además, pruebas inmunohistoquímicas indican que se produce activación del complemento inmediatamente por debajo del epitelio, lo que podría contribuir a la patogenia de la lesión de la mucosa. Por otra parte, no todas las características de la lesión de la EC pueden ser reproducidas en estos sistemas *in vitro* o en modelos experimentales; el daño de los enterocitos que se desarrolla en la mucosa de los pacientes con EC, no se presenta en los modelos animales de hipersensibilidad retardada. Por último, los modelos de confrontación *in vivo* e *in vitro* representan, desde el punto de vista de la inmunidad, una respuesta anamnésica. No se sabe cuál sería el primer paso que conduce a la sensibilización al gluten y a la subsecuente respuesta inmunitaria anormal (43,45).

Patología

Desde el punto de vista de su patología, la EC se manifiesta como una enfermedad de la mucosa del intestino delgado. Existe un patrón de anomalías histológicas (Figura 1) cuyas características incluyen una secuencia que va desde el engrosamiento de las vellosidades (Figura 2) al aplanamiento parcial (Figura 3) o total de las vellosidades (Figura 4), el alargamiento de las criptas con incremento en el índice mitótico de las criptas (Figura 5) y el adelgazamiento y raleamiento del ribete estriado de los enterocitos de la superficie aplanada de la mucosa, así como alteraciones de las células epiteliales, que adoptan forma cuboide y pseudoestratificada con elevación del número de IEL (Figura 6). Existe además aumento de las células plasmáticas, linfocitos, células cebadas, eosinófilos en la lámina propia de la mucosa (Figura 4). Sin embargo, estos cambios no son patognomónicos de la EC y la mayoría de ellos se observan en otras entidades, como la hipersensibilidad a las proteínas de la leche de vaca o la soya, la diarrea de la lactancia resistente al tratamiento, la infestación masiva por *Giardia lamblia*, inmunodeficiencias primarias, esprue tropical, sobreproliferación bacteriana y linfomas intestinales. Por tanto, en presencia de una lesión de este tipo es fundamental establecer su dependencia del gluten para sustentar el diagnóstico.

Al aprovechar la mayor resolución y magnificación que posibilita el microscopio electrónico se observa que en los enfermos que no siguen estricta y mantenidamente el régimen sin gluten prácticamente todas las estructuras que forman la mucosa del intestino delgado sufren alteraciones en mayor o menor grado. El daño del epitelio de las criptas de Lieberkühn, que parecen alargarse desde lo más profundo de la mucosa hasta la superficie plana, desprovista de vellosidades, varía dependiendo del nivel que se observe. En el cuarto más profundo de dichas criptas, las células epiteliales son semejantes a las de los sujetos normales, pero el número de células en división está aumentado e incluso se puede observar que algunas mitosis se producen en

enterocitos que han migrado hasta las cercanías de la superficie de la mucosa. El ribete estriado de estas células epiteliales no es enteramente normal y se va alterando al progresar hacia la superficie de la mucosa. Así, en el tercio medio de las criptas las microvellosidades son más cortas y tienen grosor e implantación algo irregular; grupos de dos o tres de estos elementos pueden compartir su base de implantación, generando imágenes de bi o trifurcación (Figura 7). En las células epiteliales, incluso en aquellas en las que el ribete estriado no parece demasiado alterado se observa un frecuente fenómeno de formación de canalículos pinocitóticos entre la base de las microvellosidades (Figuras 7 y 8). El glicocálix está aumentado en su grosor y densidad. En las partes más distales de las criptas el ribete estriado

de los enterocitos está muy alterado, con grupos de microvellosidades sin ordenamiento ni orientación precisa con una base de implantación común, separada de otras bases semejantes por espacios sin microvellosidades; sus raíces también tienen distintas orientaciones y su profundidad está muy disminuida. El número de canales y vesículas pinocitóticas está aumentado. Las uniones intercelulares son morfológicamente normales (Figuras 8, 9 y 10) aunque es difícil establecer sus dimensiones.

En el citoplasma apical de los enterocitos llama la atención la presencia de uno o varios corpúsculos que corresponden a cuerpos multivesiculares, lisosomas secundarios y cuerpos residuales, algunos de ellos de varios μm de diámetro (Figuras 7, 9 y 10).

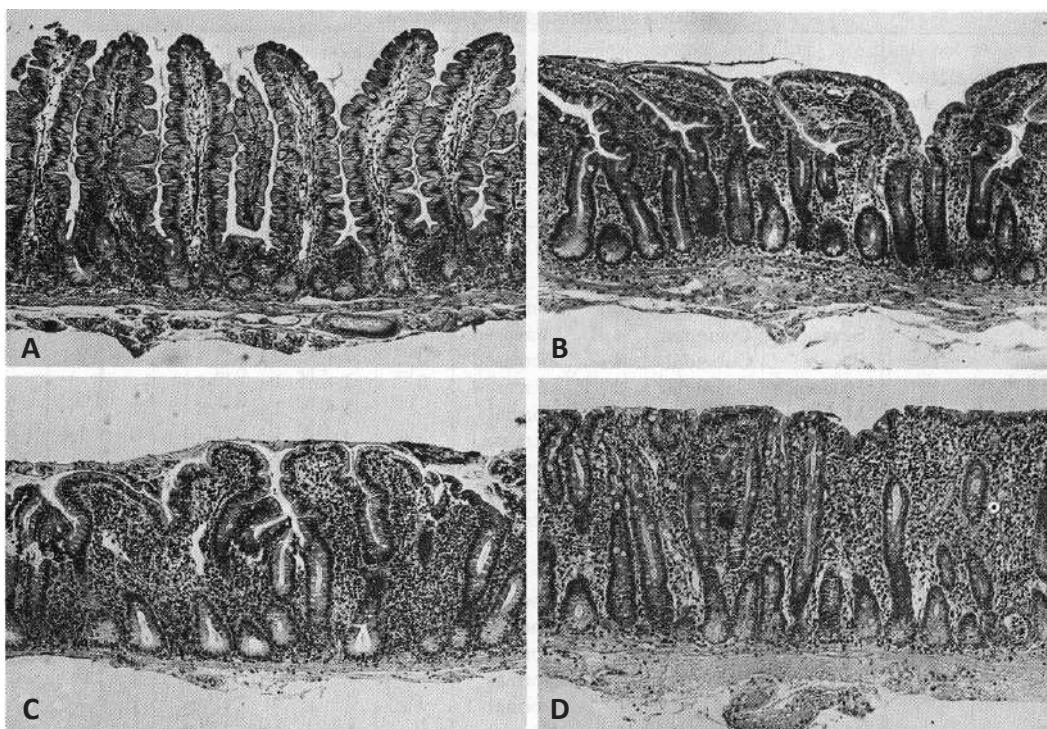


Figura 1. Secuencia de los cambios de la arquitectura de la mucosa del intestino delgado superior que van desde la mucosa normal (a) al daño mínimo (b), el daño de intensidad moderada (c) y el aplanamiento total de la superficie de la mucosa (d). Nótese que el espesor de la mucosa, medido desde el ápice de las vellosidades cuando éstas son identificables, o desde la superficie plana hasta el fondo de las criptas de Lieberkühn es semejante en las cuatro imágenes. Todas las fotografías obtenidas originalmente X50.

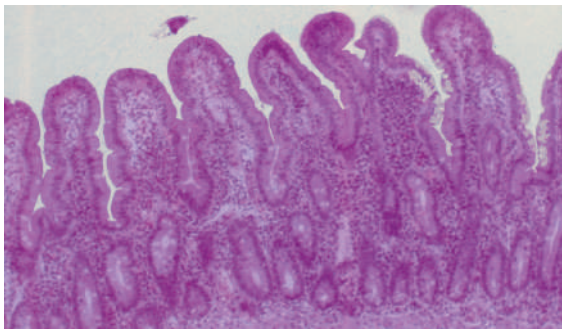


Figura 2. Mucosa intestinal con daño histológico mínimo. Las vellosidades son algo más gruesas, con ápices romos y sin escotaduras laterales. Hay un cierto grado de expansión de la lamina propia con aumento de su celularidad, principalmente por aumento de los linfocitos. Los enterocitos son prismáticos y hay un aumento leve de los linfocitos. HE. Original X 50.

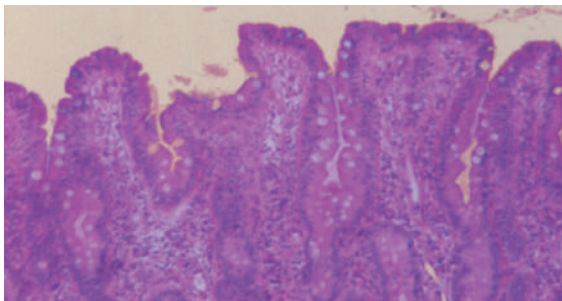


Figura 3. Mucosa con daño histológico moderado. Las vellosidades parecen algo más cortas y las criptas algo más alargadas, dando una proporción 1:1. Las vellosidades no tienen escotaduras laterales y su ápice es romo, a veces como en meseta. La celularidad de la lámina propia está aumentada moderadamente en base a linfocitos. H.E. Original X 50.

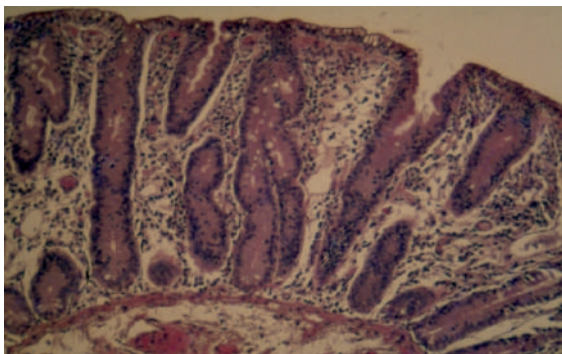


Figura 4. Mucosa con daño histológico intenso y superficie plana. Las criptas de Lieberkühn parecen llegar a la superficie. El epitelio de la superficie es prismático bajo y en algunas de sus células el citoplasma está vacuolizado. El corion de la mucosa presenta un infiltrado con predominio de los linfocitos. H.E. Original X 50.

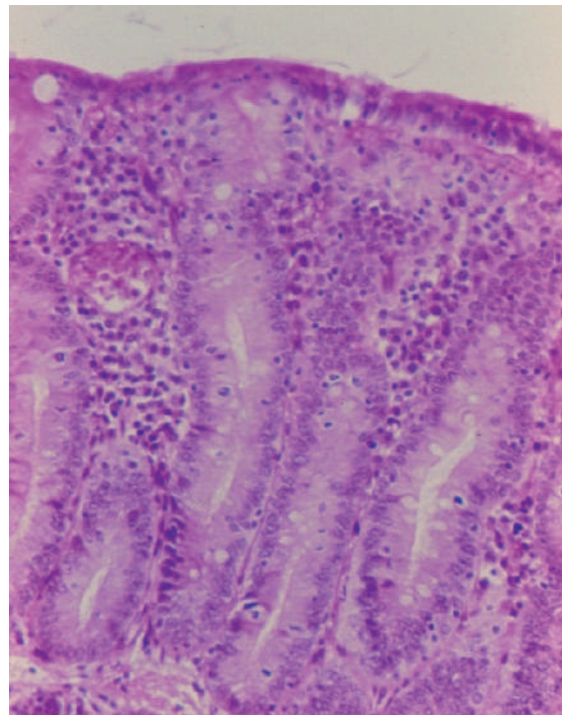


Figura 5. Fotografía a mayor aumento de mucosa del intestino delgado con daño intenso y superficie plana. Se observa la abundancia de mitosis en las criptas, el daño del epitelio superficial y la densidad de la población celular de la lámina propia, con gran aumento de los linfocitos y las células plasmáticas. En el epitelio superficial no se observan células calciformes sino por excepción. HE. Original X 100.

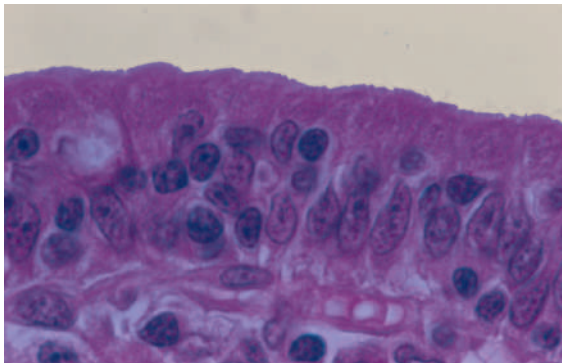


Figura 6. Epitelio de la superficie plana de la mucosa del intestino delgado en la enfermedad celíaca. Se observa la distorsión de los enterocitos y la densa infiltración del epitelio por numerosos linfocitos. El ribete estriado del epitelio es delgado, apenas visible y de aspecto desordenado. La membrana basal del epitelio está engrosada. HE. Original X 1000.

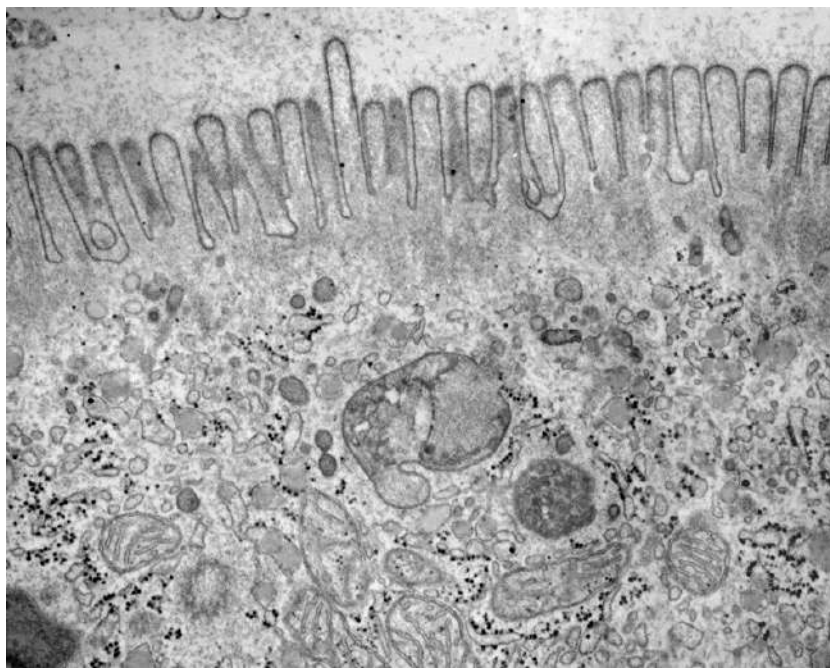


Figura 7. Apice de enterocito del tercio medio de una cripta de Lieberkühn. Las microvellosidades son muy cortas y su implantación en el citoplasma es algo irregular. En el citoplasma hay lisosomas y cuerpos residuales y se observa un centríolo. Original X 24.000.

En el citoplasma hay abundantes ribosomas libres, separados de las cisternas del retículo endoplásmico (Figuras 7 y 10). En el aparato de Golgi no se observa la presencia de partículas de lipoproteína y el núcleo celular es de forma normal. Llama la atención que con relativa frecuencia se observa la presencia de centríolos, incluso en el tercio distal de las criptas, lo que sugiere que muchas de estas células todavía pueden conservar la capacidad de dividirse (Figura 7). En la base de los enterocitos se observan con frecuencia gotas de lípidos que pueden alcanzar varios μm de diámetro. En el espesor del epitelio hay abundantes linfocitos pequeños, especialmente a nivel del tercio superior de las criptas y sobre todo en el epitelio superficial (Figura 11).

Los enterocitos de la superficie aplanada presentan intensas alteraciones de la estructura del ribete estriado, desorganización del citoplasma con dilatación del retículo endoplásmico y retención de lípidos en el aparato de Golgi; además es frecuente observar evidencias de procesos de apoptosis.

Uno de los cambios más notables de la estructura de

la mucosa ocurre en la interfase entre los enterocitos y el tejido conectivo de la lámina propia (Figura 11). El grosor o la densidad de la lamina basal puede estar disminuido (Figura 12) o aumentado (Figuras 13 y 14); incluso la lamina basal puede presentar brechas en algunas áreas. Hay una considerable acumulación de distintos tipos de materiales amorfos (Figura 11) y filamentosos (Figuras 12, 13 y 14); teniendo en cuenta su estructura los más gruesos y con estructura periódica corresponden a colágeno tipos I y III, en tanto que otros, delgados y ramificados probablemente corresponden a colágenos tipo IV (Figura 12), tipo VII y sus fibrillas y placas de anclaje (Figuras 12, 13 y 14). Es posible que algunas estructuras filamentosas lineales y ramificadas correspondan también a moléculas laminina.

En las biopsias procesadas con métodos histológicos corrientes se parece observar con alguna frecuencia gotas de lípidos en las tinciones con Sudan III o Black B bajo el epitelio de la parte distal de las criptas y de la superficie plana; sin embargo, la microscopía electrónica demuestra que estas partículas de lípi-

dos se encuentran en el citoplasma de miofibroblastos subepiteliales (Figura 15).

Los capilares sanguíneos subepiteliales tienen un aspecto inmaduro, con pocos poros en la zona de su pared que está orientada más cerca del epitelio. La teca de las células caliciformes está deformada y en aquellas que alcanzan la desembocadura de las criptas y se sitúan en el epitelio superficial se ha producido la descarga de todos sus gránulos de mucina. Al instituir el régimen estricto sin gluten la arquitectura de la mucosa sufre un proceso de mejoría paulatina asociado con el aumento de la capacidad de absorción de nutrientes. Se estima que la mejoría total se produciría en un período de aproximadamente seis meses. Por razones obvias no existen estudios seriados de la secuencia que sigue este proceso ni de la secuencia de los cambios durante la recaída.

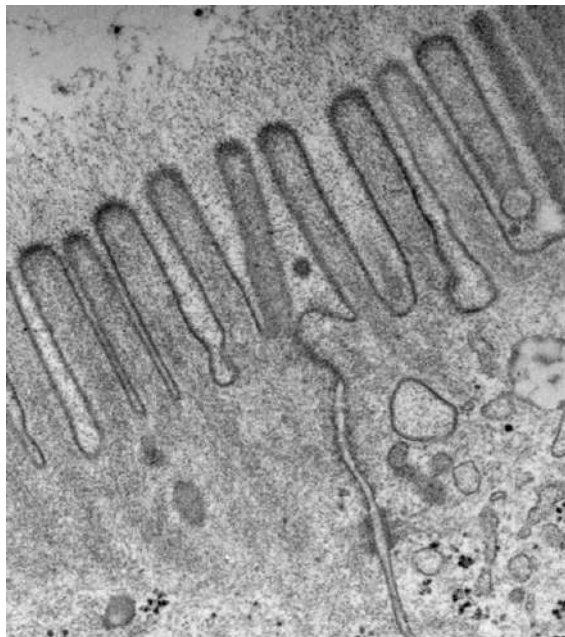


Figura 8. Unión intercelular en epitelio del tercio medio de la cripta de Lieberkühn. Los elementos del complejo de unión tienen aspecto normal aunque la unión impermeable es poco profunda. Las microvellosidades están implantadas en forma algo irregular, hay canalículos pinocitóticos y una probable vesícula en formación. El glicocálix es filamentososo y prominente. Original X 37.500.

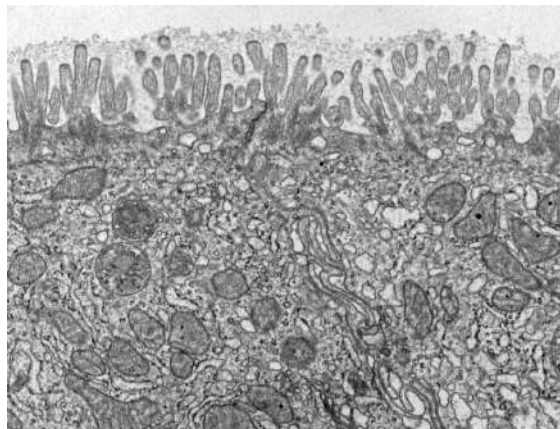


Figura 9. Ápice de un enterocito del tercio superior de la cripta de Lieberkühn. La considerable desorganización del ribete estriado contrasta con las dos ilustraciones anteriores. Las microvellosidades aparecen como en manojos y emergen con variadas orientaciones espaciales. El glicocálix es filamentososo y denso. El citoplasma y los organelos son de aspecto normal; hay dos lisosomas de pequeño tamaño. Original X 18.000.

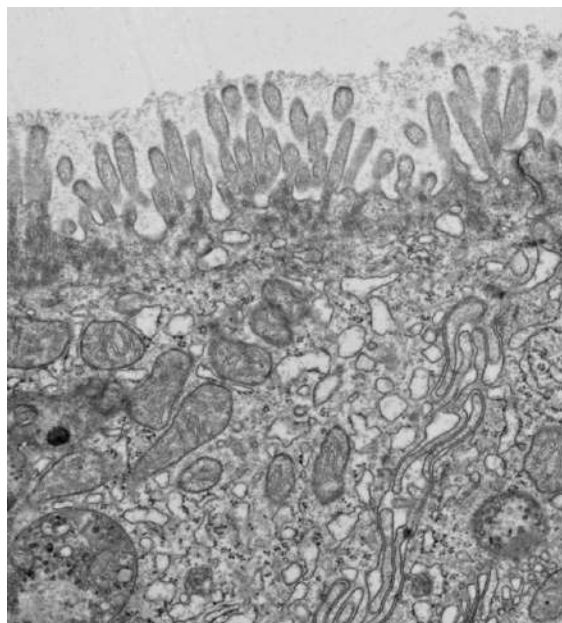


Figura 10. Zona semejante a la de la Figura anterior pero a mayor aumento. Se observa la ramificación de las bases de las microvellosidades. En el ápice celular las raíces de las microvellosidades también tienen diversas orientaciones espaciales. Los organelos son de aspecto normal y hay un lisosoma que mide aproximadamente 1,5 µm de diámetro. Original X 25.000.

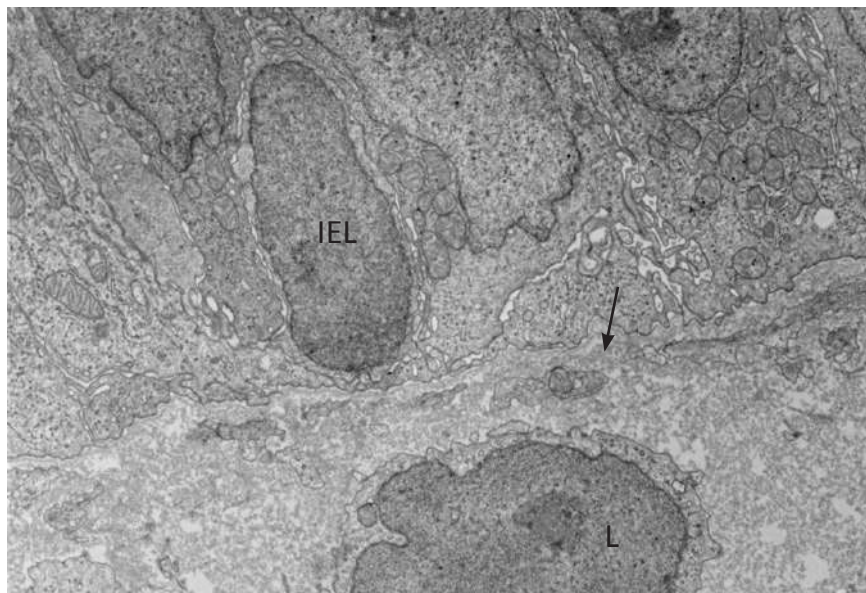


Figura 11. Interfase entre la base de los enterocitos y el tejido conectivo. Se observa que la lámina basal, de aspecto normal, sigue el contorno de los enterocitos (flecha). Por debajo de ella hay abundante material denso, amorfo y fibrilar. Se observan algunas prolongaciones de miofibroblastos. Hay un linfocito intraepitelial (IEL) y en el corion un linfocito pequeño. Original X 9.400.

En los últimos años se ha reconocido que la evolución de la lesión de la mucosa en la EC requiere la transición desde una forma más temprana, caracterizada por un patrón de infiltración (epitelio infiltrado por numerosos linfocitos pequeños, no mitóticos), pasando por una lesión hiperplásica (hiperplasia de las criptas sin atrofia de las vellosidades), hasta llegar a la lesión en que la mucosa está aplanada. Más aún, ahora se acepta que esta enteropatía dependiente del gluten no está restringida a los pacientes que presentan aplanamiento de la mucosa y que consumen una dieta con gluten; algunos pacientes que mientras consumen una dieta normal tienen recuentos elevados de IEL en la mucosa del yeyuno, que por lo demás es normal desde el punto de vista de su arquitectura. En ellos el número de IEL disminuye cuando consumen una dieta libre de gluten y se eleva nuevamente cuando se vuelve a introducir esta proteína en su alimentación. Además de las anomalías patológicas sutiles, se han propuesto pruebas inmunológicas para identificar a los sujetos con "sensibilidad al gluten" pero sin manifestaciones clínicas de EC. Las alteraciones detectadas por estas pruebas incluyen la presencia de anticuerpos contra el endomisio en el suero, incrementos en

el número de IEL y respuestas positivas a la prueba de confrontación rectal con gluten. Los parientes en primer grado de pacientes con EC representan una población especial en la cual es probable que exista una mayor prevalencia de sensibilidad al gluten. El 41% de los parientes sanos tiene incrementos de la densidad de IEL y cambios inflamatorios detectables por exámenes inmunohistoquímicos. En la experiencia de algunos autores, aproximadamente el mismo porcentaje ha mostrado una reacción inflamatoria local en la prueba de instilación de gluten en el recto, que es una prueba dinámica, más específica, para establecer la existencia de una sensibilización al gluten. Desde el punto de vista clínico, la mayoría de los sujetos con "sensibilidad al gluten" son asintomáticos, en tanto que otros sólo presentan enteropatía leve. La evolución hacia formas más graves probablemente depende de la composición genética del sujeto y de factores ambientales, como la cantidad de gluten en la alimentación o de infecciones intercurrentes. Se ha propuesto que en estos individuos sin ninguna o con mínimas alteraciones morfológicas y de laboratorio se utilice el término de EC potencial (46-50).

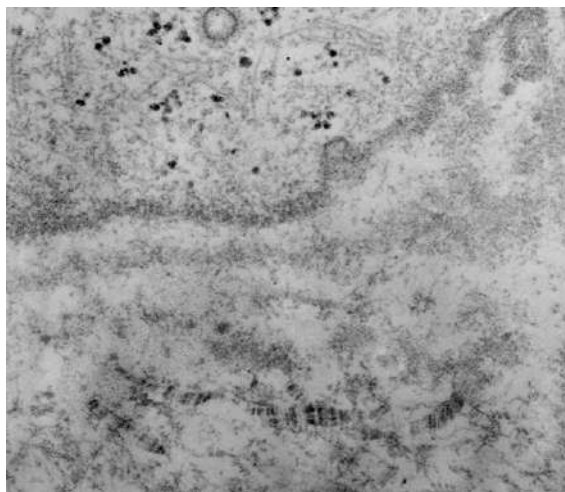


Figura 12. Base de enterocito. Por debajo de la lámina basal, que presenta una brecha, se observan fibras y filamentos que probablemente corresponden a colágeno III y IV y tal vez a laminina, esta última presente en las vecindades de la lámina basal. Original X 52.700.

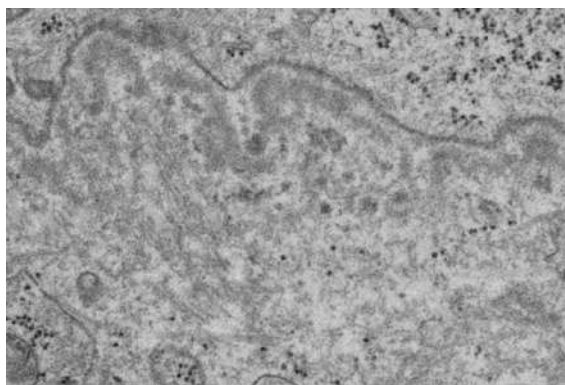


Figura 13. Zona semejante a la anterior en la base de un enterocito. Se observa la membrana basal gruesa y sinuosa, que incluye corpúsculos densos en el espacio translúcido. Hay abundantes filamentos que parecen corresponder a colágeno III y placas que asemejan colágeno VII. Original X 39.000.

También es posible que durante la vida del individuo la intensidad de la enteropatía por sensibilidad al gluten varíe. Se ha informado de casos de pacientes que tienen su mucosa intestinal normal aunque consumen una alimentación con gluten y que en algún momento de su vida manifiestan la lesión con apla-

namiento de la mucosa del yeyuno, que se recupera cuando se suspende el gluten de la alimentación. Para este tipo de pacientes, se ha propuesto utilizar el término de EC latente (51,52).

Cuadro clínico

Las características somáticas de los afectados por la EC difieren de manera considerable. En los niños diagnosticados dentro de los dos primeros años de vida, los síntomas intestinales son frecuentes: a menudo sufren de diarrea crónica, distensión abdominal, anorexia, retraso del desarrollo, pérdida de masa muscular e irritabilidad. Aproximadamente 1/3 de los pacientes que presentan esta forma temprana de la enfermedad tiene vómitos repetidos. Su historia clínica revela que el crecimiento fue normal en los primeros meses de vida pero semanas o meses después de la introducción del trigo en su alimentación las heces se tornaron fétidas, grasosas y abundantes y apareció la distensión abdominal. Al mismo tiempo, el aumento ponderal cesa, el apetito disminuye y el niño se siente mal, está irritable y deprimido. Si la enfermedad no es diagnosticada rápidamente pueden aparecer signos de deficiencias vitamínicas: piel seca que descama, cabello opaco y quebradizo y lengua depapilada. Algunos pacientes pueden presentar un cuadro grave, con diarrea intensa que lleva a la deshidratación y estado de shock (crisis celíaca). Este cuadro se observa con mayor frecuencia en los casos en que el paciente ha estado siguiendo la dieta sin gluten y la interrumpe.

La EC que se manifiesta en etapas más avanzadas de la infancia se caracteriza por la presencia de síntomas extraintestinales, en un patrón similar a la enfermedad de los adultos. En la región de Tampere, en Finlandia, es raro que se diagnostique la enfermedad en niños menores de cinco años y se manifiesta por síntomas gastrointestinales poco intensos, baja estatura, retraso de la pubertad, anemia y molestias articulares. De los síntomas extraintestinales, la baja estatura es una de las manifestaciones más frecuentes; las biopsias de la mucosa del yeyuno de cerca de

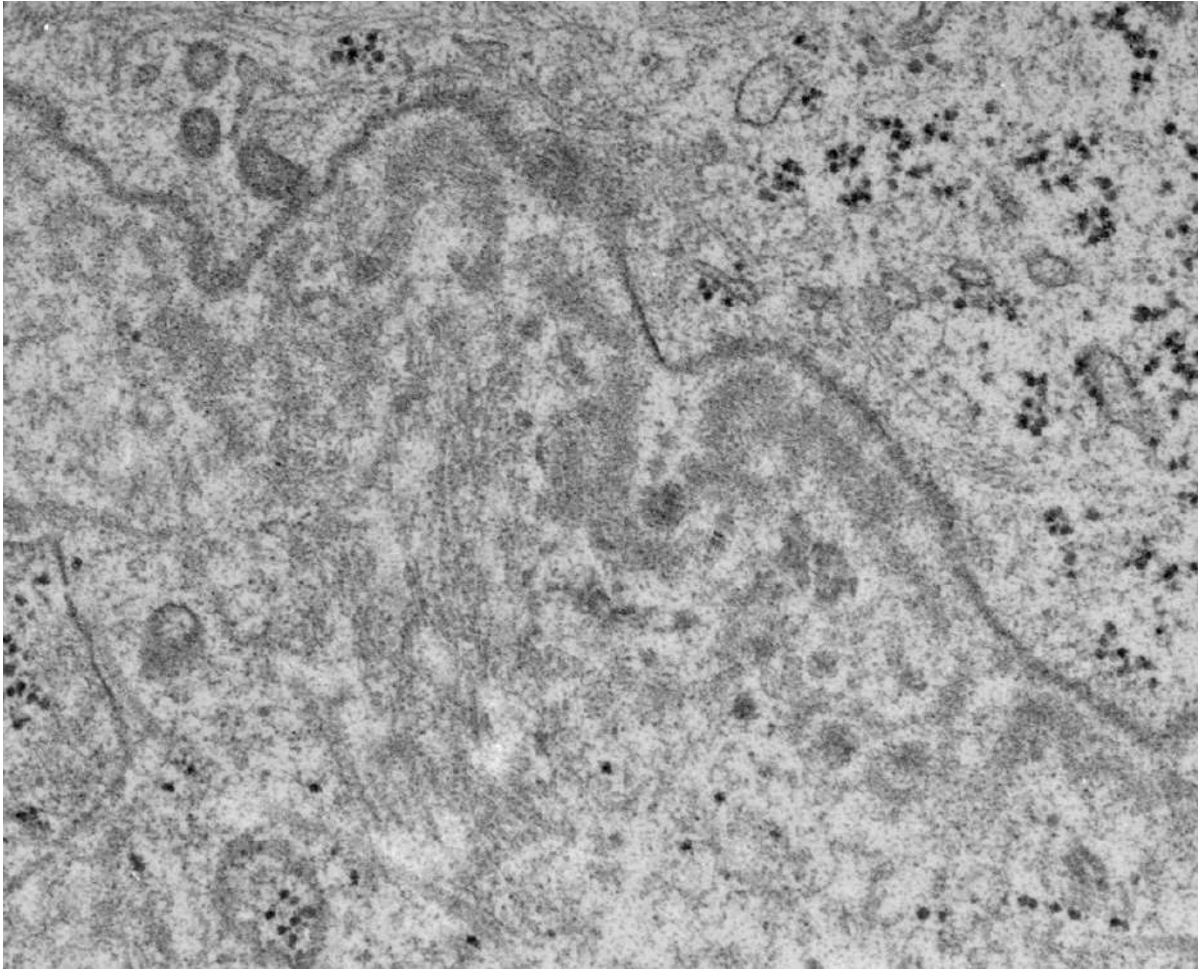


Figura 14. Area de la zona anterior a mayor aumento. La lámina basal, los filamentos y las placas se observan con más detalle. Original X 72.500.

10% de los pacientes cuyo único motivo de consulta es la baja estatura, muestran aplanamiento de las vellosidades. En fechas más recientes se han encontrado casos en los que la EC se manifestó inicialmente por artritis o por hepatitis crónica “criptogénica”; en ambos casos los síntomas se resolvieron al instaurar una dieta libre de gluten (52).

En algunos pacientes con disfunción neurológica de causa desconocida, que consiste principalmente en

ataxia y/o neuropatía periférica, se ha demostrado la presencia de EC sin síntomas ni signos de malabsorción. Hace poco se publicó la combinación de EC (en general asintomática), epilepsia y calcificaciones bilaterales en los lóbulos occipitales. Por último, en investigaciones realizadas en familias en las que se ha diagnosticado un caso de EC ha resultado evidente que ésta puede ser totalmente asintomática desde el punto de vista clínico (53).

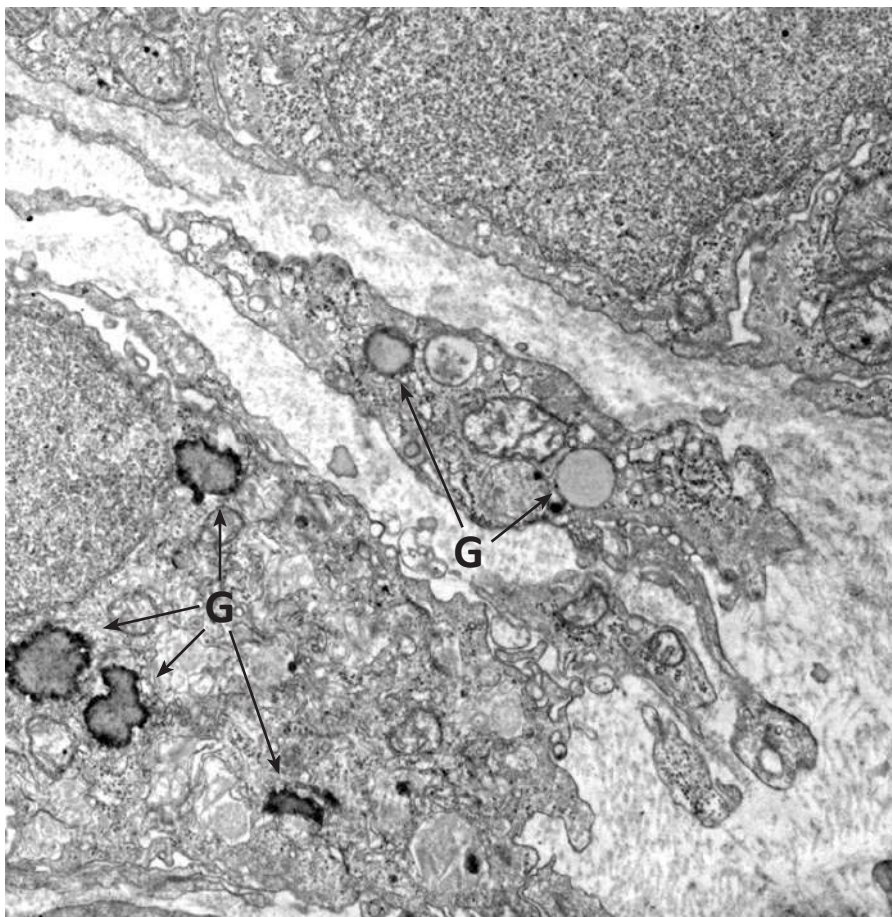


Figura 15. Miofibroblastos en la interfase de la lámina propia con el epitelio intestinal, tercio basal de cripta de Lieberkühn que llega a la superficie plana de la mucosa. La base de los enterocitos ocupa el ángulo superior derecho de la ilustración y se aprecia en su citoplasma la presencia de mitocondrias y elementos del retículo endoplásmico. Por debajo de los enterocitos hay una lámina basal poco densa. Por debajo de ella hay un cuerpo celular de miofibroblasto con su núcleo y citoplasma en contacto con prolongaciones delgadas de otras células. Entre ella y los enterocitos hay una prolongación que contiene mitocondrias. Tanto en el cuerpo celular del miofibroblasto como en la prolongación hay gotas de lípidos, algunas de hasta $0,8 \mu\text{m}$ de diámetro, con bordes regulares o irregulares (G). Hay partículas menores libres en los espacios entre el epitelio y las prolongaciones de los miofibroblastos. Original X 18.000.

Patologías relacionadas con la enfermedad celíaca

Dermatitis herpetiforme

La dermatitis herpetiforme (DH) se caracteriza por un exantema simétrico, pruriginoso, con ampollas subepidérmicas y depósitos granulares subepidérmicos

de IgA, incluso en sitios distantes del exantema y no afectados por éste.

La mayor parte de los pacientes con DH tiene alteraciones histológicas en muestras de mucosa del intestino delgado, que no se diferencian de la EC aunque suelen ser menos intensas y de distribución irregular. Se ha informado que cerca de 60% de los niños con DH presentan aplanamiento total de las

vellosidades y 30% tienen alteraciones de intensidad moderada en las biopsias del duodeno-yeyuno. Los cambios histológicos desaparecen después que se excluye el gluten de la alimentación.

Una dieta estrictamente libre de gluten permite, en el transcurso de algunos meses, disminuir o incluso suspender la administración de dapsona. Al parecer, la mejoría de las lesiones de la piel con la dieta libre de gluten ocurre también en los pacientes que no tienen cambios histológicos en su mucosa; en éstos mismos casos, el exantema recurre cuando se vuelve a introducir el gluten en la alimentación (54).

Autoinmunidad y enfermedad celíaca

Algunas enfermedades, muchas de las cuales tienen una patogenia autoinmunitaria, son diagnosticadas en los pacientes con EC con una frecuencia mayor que la habitual; entre ellas se encuentran enfermedades de la glándula tiroides, la enfermedad de Addison, la anemia perniciosa, la trombocitopenia autoinmune, la sarcoidosis, la diabetes mellitus dependiente de insulina (tipo 1) y la alopecia areata. Estas asociaciones han sido interpretadas como efectos de la presencia de haplotipos HLA idénticos (por ejemplo, DR3). Sin embargo, la relación entre la EC y la autoinmunidad es más compleja. En los pacientes con EC hay pruebas de que el riesgo de desarrollar enfermedades autoinmunes se relaciona directamente con la duración de la exposición al gluten. Más aún, los pacientes con estas enfermedades no sólo tienen en el suero autoanticuerpos dirigidos contra proteínas no colágenas de la matriz conectiva (por ejemplo anticuerpos contra el endomisio), sino que a veces también desarrollan anticuerpos específicos de órgano cuyos títulos disminuyen cuando consumen una alimentación libre de gluten. Todas estas pruebas favorecen la hipótesis de que la EC es una enfermedad autoinmune desencadenada en individuos genéticamente susceptibles por la ingestión de gluten (45-48).

Otras enfermedades asociadas

En los pacientes con EC se ha observado un aumento de la incidencia del síndrome de Down en comparación con la población general (54b).

La deficiencia selectiva de IgA es otra condición relacionada con la enfermedad celíaca. En estos pacientes se tienen que usar pruebas de detección distintas de las que se basan en la medición de anticuerpos del isotipo IgA. Por último, existen publicaciones que vinculan a la EC con otras enfermedades del aparato digestivo como la fibrosis quística y la intolerancia a la proteína de la leche de vaca (55-57).

Pruebas de laboratorio

Exámenes para el diagnóstico de la malabsorción

Las pruebas que permiten diagnosticar la malabsorción pueden resultar útiles para orientar el diagnóstico hacia la EC. La medición de la hemoglobina, hierro, calcio, fósforo, fosfatasa alcalina, magnesio y niveles de proteínas en la sangre, pueden arrojar fuertes indicios de su existencia. La concentración de folato en los eritrocitos constituye un índice particularmente sensible. Antes de realizar biopsias de la mucosa intestinal es necesario cuantificar el nivel de protrombina.

Pruebas de permeabilidad intestinal

En los últimos años se ha demostrado que las pruebas basadas en la medición de la permeabilidad del intestino a ciertos azúcares, constituye herramienta valiosa para la detección de probables lesiones del epitelio intestinal por métodos no invasores. La mayor parte de estos exámenes se basan en el transporte diferencial de dos azúcares que no son metabolizados. En la EC no tratada, la absorción de la sustancia de prueba cuya molécula es más pequeña (monosacáridos: manitol, ramnosa), está disminuida debido a la disminución de superficie del epitelio intestinal, mientras que el transporte de

los azúcares de mayor tamaño molecular (disacáridos: lactulosa, celobiosa) está aumentada, porque la vía paracelular, las tight junctions, se han vuelto más permeables ya que tienen menor profundidad y menos puntos de fusión entre las hojas externas de las respectivas membranas plasmáticas. La expresión de los resultados como la proporción de la recuperación de disacárido/monosacárido separa claramente los casos normales de aquellos con lesión de la mucosa. Aunque esta prueba tiene sensibilidad suficiente para detectar las alteraciones de la mucosa del yeyuno, también se caracteriza por su baja especificidad para el diagnóstico de la EC y por generar falsos positivos que ocurren fundamentalmente en pacientes con otras causas de lesiones de la mucosa, por ejemplo, en la enfermedad de Crohn, el eccema atópico, la alergia a alimentos y las lesiones inducidas por antiinflamatorios no esteroideos (58-59).

Pruebas serológicas

Entre las pruebas de detección de anticuerpos en el suero, la medición de los anticuerpos antigliadina (antigliadin antibodies, AGA) es el examen que más se ha aplicado en los últimos años. Su sensibilidad es alta, aunque no llega a 100%. Cuando los isotipos de IgG e IgA se consideran por separado, los AGA IgG muestran mayor sensibilidad que los del isotipo IgA, pero con muchos resultados falsamente positivos. La malabsorción que se produce después de una infección intestinal, la enfermedad de Crohn y la intolerancia a las proteínas de la leche de vaca son enfermedades gastrointestinales frecuentes que se asocian a veces con AGA IgG. Entre los sujetos con falsos resultados positivos, las enfermedades extra-intestinales que se encuentran con mayor frecuencia son el eccema atópico, el pénfigo y el penfigoide. Un problema práctico que se debe tener presente en relación con el uso de AGA IgA para el diagnóstico de la EC es la alta prevalencia de deficiencias de IgA en esta enfermedad (cerca de un caso en cada 50 pacientes).

Los AGA no son los únicos anticuerpos que se encuentran en títulos elevados en el suero de los

pacientes con EC. Entre los anticuerpos no alimentarios de especial interés están aquellos dirigidos contra la reticulina. Su presencia en la EC fue publicada por primera vez a inicios del decenio de 1970; los anticuerpos que pertenecen a la clase IgG tienen un valor diagnóstico limitado, mientras que los anticuerpos del isotipo IgA muestran alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico. El suero de los pacientes con EC reacciona no sólo con el tejido de ratas y de otros roedores, sino también con tejidos de primates. Chorzelski y colaboradores fueron los primeros en describir anticuerpos antiendomisiales dirigidos contra un componente del tejido conectivo, parecido a la reticulina, situado alrededor de las fibras del músculo liso del esófago de mono. Para el diagnóstico de la EC esta prueba tiene sensibilidad y especificidad cercanas al 100% (33). Bürgin-Wolff y colaboradores encontraron que la sensibilidad era de sólo 90%, pero muchos de los resultados negativos falsos ocurrieron en niños menores de dos años. En fecha reciente se encontró un nuevo sustrato para estos anticuerpos en el cordón umbilical humano, un tejido fácil de obtener (60-65).

Se han utilizado pruebas serológicas para valorar la prevalencia de la EC en grupos en riesgo y en la población general. Aún no se ha determinado el significado de la "falsa positividad", es decir, la presencia de tales anticuerpos en sujetos con mucosa evidentemente normal. En el estudio de una familia, la positividad de los anticuerpos para la gliadina en los parientes en primer grado, sin lesiones histológicas llamativas pero con leves anormalidades morfológicas de la mucosa del yeyuno, fue interpretada como evidencia de una EC latente. De manera similar, se encontró que los pacientes con anticuerpos positivos contra la reticulina y arquitectura normal de la mucosa del intestino delgado evidenciaron a veces aplanamiento de las vellosidades cuando la biopsia fue repetida después de uno a siete años. Se obtuvieron resultados similares en una cohorte de niños diabéticos.

Por tanto, estos estudios implican que a las personas con resultados positivos falsos en las pruebas de AGA IgA o de anticuerpos contra la reticulina o

el endomisio se les debe mantener un seguimiento cercano porque se sospecha en ellos la presencia de EC "latente".

Recientemente un Grupo de Trabajo de ESPGHAN estableció nuevos criterios para el diagnóstico de la EC. Con la aplicación de estos criterios se pudo definir dos grupos de pacientes que deberían recibir diferentes enfoques para el diagnóstico: aquellos con signos sugerentes de EC (grupo 1) y aquellos asintomáticos pero con alto riesgo (grupo 2). Para estos criterios sirvieron de base la revisión del informe de la Agencia para la Investigación y la Calidad del Cuidado de Salud del National Institutes of Health de los Estados Unidos, publicado en 2004, y la revisión sistemática de la literatura publicada entre 2004 y 2009 acerca de la detección de los anticuerpos empleados para el diagnóstico de la EC en niños. Un considerando importante en este proceso ha sido la mejoría de la calidad de las pruebas diagnósticas inmunológicas, que actualmente poseen la capacidad de discriminar los valores positivos con un alto grado de sensibilidad y especificidad, y la disponibilidad de métodos para identificar los haplotipos característicos de la EC (DQ2 y DQ8) en leucocitos humanos (HLA). Otro de los motivos que movieron a realizar este estudio fue que en los últimos años la sintomatología de la EC ha cambiado notablemente y esta patología es considerada en la actualidad como una enfermedad autoinmune que no sólo afecta al tubo digestivo sino también al resto del organismo, generando en todas las edades una sintomatología muy variada, a veces incluso sin compromiso aparente del tracto gastrointestinal. Según lo estableció este Grupo de Trabajo, en ciertos pacientes (Grupo 1) el diagnóstico debe estar basado en el análisis de los síntomas, la serología positiva y la presencia de alteraciones histológicas concordantes con el diagnóstico. Pero si el título de anticuerpos del isotipo IgA para la antitransglutaminasa tisular del tipo 2 es elevado, es decir superior a 10 veces el límite superior del rango normal, existiría la opción de formular el diagnóstico sin necesidad de obtener biopsias de la mucosa duodenal. En este caso se deben repetir los exámenes de laboratorio para certificar el diagnós-

tico. En el grupo 2 de pacientes el diagnóstico debe estar basado en la serología positiva y la biopsia de la mucosa duodenal. La determinación de HLA DQ2 y DQ8 es valiosa ya que es poco probable que ambos marcadores resulten negativos en pacientes con esta enfermedad.

En un estudio realizado en un grupo numeroso de pacientes sintomáticos y en sujetos asintomáticos en riesgo de desarrollar formas oligo o asintomáticas de EC en Finlandia, se verificó mediante la aplicación de los criterios antes mencionados que la medición de una actividad fuertemente positiva de la antitransglutaminasa-2 en los glóbulos rojos se correlacionaba muy bien con otras metodologías de diagnóstico inmunológico [anti-EmA (anticuerpos antiendomiso) y anti hr-TG2ab (anticuerpo anti transglutaminasa-2 humana recombinante)] cuando se considera como valor de corte un valor igual o superior a 5 veces el límite superior del valor normal, que en este caso correspondió a 100 U. Los valores entre 20 U (límite superior del rango normal) y 100 U fueron considerados dudosos. Estos nuevos criterios son valiosos porque en una proporción de los pacientes probablemente obviarán la necesidad de practicar biopsias de la mucosa duodeno-yeyunal. Sin embargo, pese a las objeciones que presenta este procedimiento invasor en los niños (necesidad de anestesia general, tensión emocional, etc.), la obtención de un número adecuado de muestras de la mucosa obtenidas bajo visión endoscópica y procesadas adecuadamente para obtener un buen número de cortes histológicos bien orientados y teñidos, examinados por un observador experimentado sigue siendo un instrumento altamente sensible y específico para resolver los casos dudosos (66-68).

Diagnóstico

En 1969, la ESPGHAN recomendó realizar tres biopsias de la mucosa intestinal para certificar el diagnóstico de EC en los niños: una en el momento de la manifestación clínica inicial, otra después que el paciente se ha estado alimentando con una dieta libre de gluten por un tiempo suficientemente pro-

longado (se espera que la mucosa haya regresado a la normalidad), y la última, después que se ha vuelto a confrontar al paciente con alimentos que contienen gluten (se espera que haya recurrido el aplanamiento de las vellosidades) (26).

Veinte años después, una comisión de trabajo de la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátricas (European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, ESPGHAN) reconsideró estos criterios diagnósticos. Los dos requisitos considerados necesarios para el diagnóstico siguen siendo:

- la existencia de aplanamiento de las vellosidades con hiperplasia de las criptas y anormalidades del epitelio superficial, mientras el paciente consume cantidades usuales de gluten;
- la remisión clínica completa después de suprimir el gluten de la dieta.

La presencia de anticuerpos circulantes del isotipo IgA contra la gliadina, la reticulina y/o el endomisio en el momento del diagnóstico y su desaparición con la dieta libre de gluten, añade peso al diagnóstico. La biopsia para verificar los resultados de la dieta libre de gluten en la arquitectura de la mucosa intestinal se considera necesaria sólo en aquellos pacientes cuya respuesta clínica a la dieta es dudosa y en aquéllos que estaban asintomáticos cuando se hizo el diagnóstico (como suele ser el caso de los pacientes diagnosticados durante los exámenes de detección inicial o de rastreo, por ejemplo los parientes en primer grado de sujetos con enfermedad celíaca demostrada) (66-68).

Salvo en circunstancias especiales, la prueba de confrontación con el gluten no es considerada indispensable. Entre dichas circunstancias se encuentran los casos en los que hubo duda respecto del diagnóstico inicial; por ejemplo, cuando no se obtuvieron biopsias o cuando las muestras de tejido resultaron insuficientes o atípicas para EC. En estos casos puede ser necesaria la confrontación diagnóstica para excluir otras etiologías (por ejemplo la alergia a la leche de vaca, el síndrome postenteritis y la giardiasis) que pudieran ser causas del aplanamiento de la mucosa. Puesto que la mayor parte de estos trastornos se presentan durante los primeros dos años de vida, la con-

frontación con el gluten se recomienda con mayor frecuencia para aquellos pacientes que fueron diagnosticados antes de cumplir dos años de edad (66).

No es recomendable hacer la prueba de confrontación con gluten muy pronto después de la primera biopsia. Se ha observado que los niños que han sido confrontados con el gluten antes de los tres años de edad muestran defectos del esmalte en los incisivos centrales permanentes. Más aún, administrar gluten a niños que son celíacos repercute en su crecimiento. Cuando los niños son mayores, y pueden cooperar con el procedimiento, es técnicamente más fácil obtener las muestras de mucosa del intestino delgado para el examen histológico. Las pruebas de confrontación con gluten deben ser desaconsejadas antes de los siete años de edad y durante el periodo de crecimiento rápido de la pubertad.

Una vez que se ha decidido hacer la prueba de confrontación, ésta se debe realizar bajo estricta supervisión médica. Debe ser precedida por la evaluación histológica de la mucosa y es necesario administrar una dosis estandarizada de por lo menos 10 g de gluten por día sin alterar los hábitos alimentarios ya establecidos por el régimen sin gluten. Se toma otra biopsia de la mucosa intestinal cuando se produce la recidiva clínica o, en todos los casos, tres a seis meses después del comienzo de la confrontación. Para acortar la duración de la prueba de confrontación con el gluten, más que los síntomas clínicos son los exámenes de laboratorio (anticuerpos IgA contra gliadina, reticulina y/o endomisio, pruebas de absorción y de permeabilidad) los que deben servir de guía a fin de establecer el momento apropiado para obtener la biopsia de la mucosa. Si no hay cambios en la arquitectura de la mucosa o éstos son mínimos, en ausencia de síntomas o de alteraciones de las pruebas de laboratorio, se debe iniciar un seguimiento cercano y repetir la biopsia a los dos años. Si el cuadro histológico no ha variado, es fundamental dar un seguimiento a más largo plazo, en la vida adulta y tomar otras biopsias si reaparecen los síntomas o cuando los exámenes de anticuerpos resultan anormales.

Tratamiento

Desde que se identificó al gluten como el factor causal de la EC, la dieta libre de gluten ha sido la base del tratamiento de estos pacientes. Deben excluir de su alimentación el trigo, la cebada y el centeno; también se debe suprimir la avena, porque no se ha descartado su toxicidad y por el temor de que pueda estar contaminada con pequeñas cantidades de gliadina; el arroz y el maíz no son nocivos y se utilizan como sustitutos del trigo.

La respuesta clínica a la eliminación del gluten suele ser asombrosa pero se debe poner énfasis en que este tipo de dieta se recomienda tanto en los pacientes sintomáticos, como en personas con EC asintomática. La normalización de las características histológicas del yeyuno ocurre unos seis meses después de iniciada la dieta. La causa más probable de la falta de respuesta es la dieta poco estricta pero también se debe tomar en cuenta la posibilidad de que se trate de sensibilización a otras proteínas, o la presencia de un linfoma o de inmunodeficiencias.

Las pruebas con que hoy se cuenta apoyan fuertemente el punto de vista de que la restricción de la gliadina y de las prolaminas relacionadas debe ser completa y durante toda la vida. De hecho, se ha demostrado que el riesgo de desarrollar un linfoma del intestino delgado se incrementa en los pacientes que mantienen una dieta con contenido de gluten bajo o normal. En los pacientes que han mantenido la dieta libre de gluten estricta por cinco años o más, el riesgo de tumores malignos en cualquier órgano no es mayor que el de la población general (también se ha observado en los individuos con EC un aumento de la morbilidad por cáncer de la mucosa de la boca, la faringe o el esófago). El efecto protector de la dieta libre de gluten frente a las enfermedades malignas fue confirmado por el hecho que, en la serie de Escocia, la mortalidad en pacientes con EC diagnosticada en la infancia, es similar a la de la población general. No se registraron en ellos muertes por enfermedades malignas. Las enfermedades ma-

lignas no constituyen el único riesgo al que se exponen los sujetos con EC que no siguen una dieta libre de gluten: existe el riesgo de deficiencias nutricionales y la demostración, más reciente, de una relación real entre el riesgo de desarrollar enfermedades autoinmunes y el tiempo de exposición al gluten.

Otras medidas terapéuticas

Es necesario corregir las deficiencias específicas de vitaminas, minerales y oligoelementos. Por lo general el tratamiento de reposición se puede interrumpir después de haber confirmado la recuperación clínica e histológica de las funciones del intestino delgado con la dieta libre de gluten.

Generalmente no se requieren otras medidas alimentarias. La actividad de las disacaridasas está muy deprimida en la mucosa de los pacientes celíacos con daño histológico intenso, pero se recomienda suspender o restringir el consumo de leche y los productos que contienen lactosa sólo si hay manifestaciones clínicas sugerentes de intolerancia. La deficiencia de lactasa se resuelve prontamente después de instituir una alimentación libre de gluten y dos a cuatro semanas después de haberla iniciado la leche suele ser tolerada de nuevo.

Cuando el paciente presenta una crisis celíaca es fundamental la corrección rápida de la depleción de líquidos y de las alteraciones de los electrolitos; el tratamiento con esteroides es útil. En los lactantes y especialmente en aquellos gravemente enfermos, en quienes la anorexia y la malabsorción no responden rápidamente a la dieta libre de gluten, se puede utilizar los corticosteroides por plazos cortos (2 mg/kg/24 h de prednisona por una a dos semanas).

Referencias

1. Anderson CM. Coeliac disease. En: Paediatric gastroenterology. CM Anderson, V. Burke y M. Gracey, eds. 2ª edición. Victoria, Australia: Blackwell Scientific Publications. 1987; 375- 400.
2. Abumrad N, Storch J. Role of membrane and cytosolic fatty acid binding proteins in lípido processing by the small intestine. En: Physiology of the gastrointestinal tract. L. Johnson, editor. 4ª edición. Burlington, Massachusetts. Academic Press. 2006; 1693-1709.
3. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical physiology. Unit XII: Gastrointestinal physiology. 11ª edición. Filadelfia: Elsevier Saunders. 2006; 771 – 828.
4. van de Kamer JH, ten Bokkel Huinink H, Weijers HA. Rapid method for the determination of fat in feces. J Biol Chem 1949; 177: 347-55.
5. Wagner MH, Bowser EK, Sherman JM, Francisco MP, Theriaque D, Novak DA. Comparison of steatocrit and fat absorption in persons with cystic fibrosis. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2002; 35: 202-5.
6. Koletzko B, Demmelmair H, Hartl W, Kindermann A, Koletzko S, Sauerwald T, Szitanyi P. The use of stable isotope techniques for nutritional and metabolic research in paediatrics. Early Hum Dev 1998; 53 Suppl: S77-97.
7. van Dijk-van Aalst K, Van Den Driessche M, van Der Schoor S, Schiffelers S, van't Westeinde T, Ghoos Y, Veereman-Wauters G. 13C mixed triglyceride breath test: a noninvasive method to assess lipase activity in children. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2001; 32: 579-85.
8. Evenepoel P, Hiele M, Geypens B, Geboes KP, Rutgeerts P, Ghoos Y. 13C-egg white breath test: a non-invasive test of pancreatic trypsin activity in the small intestine. Gut 2000; 46: 52-57.
9. Investigations and methodology. En: Paediatric gastroenterology. CM Anderson, V. Burke y M. Gracey, eds. 2ª edición. Victoria, Australia: Blackwell Scientific Publications. 1987; 864-96.
10. Sood MR. Disorders of malabsorption, En: Nelson Textbook of Pediatrics. 18ª edición. Filadelfia: Saunders Elsevier. 2007; 1587–1602.
11. Ganapathy V, Brandsch M, Leibach FH. Intestinal transport of amino acids and peptides . En: LR Johnson, editor. Physiology of the gastrointestinal tract. 3ª edición. Nueva York: Raven Press. 1994; 1773–94.
12. Grand RJ, Montgomery RK, Chitkara DK, Büller HA. Carbohydrate and lactase malabsorption. En: LR. Johnson, editor. Encyclopedia of Gastroenterology. San Diego, California: Academic Press Elsevier. 2004; Volumen 1; 268–74.
13. Wilson M. Microbial inhabitants of humans. Their ecology and role in health and disease. Cambridge: Cambridge University Press. 2005; 251–317.
14. Scriver CR, Sly WS, Childs B, Beaudet AL, Valle A, Kinzler KW, Vogelstein B. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8ª edición. Nueva York: The McGraw-Hill Company. 2001.
15. Silverman A, Roy CC: Physical signs. En: Pediatric clinical gastroenterology. 3d ed. Saint Louis, Mo. CV Mosby. 1983; 38-43.
16. Sondheimer JM: Office stool examination: a practical guide. Contemporary Pediatrics 1990; 7: 63-82.
- 16b. Harper JW, Holleran SF, Ramakrishnan R, Bhagat G, Green PH. Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology. Am J Hematol 2007; 82: 996-1000.

17. Hoffbrand AV, Douglas AP, Fry T, Stewart JS. Malabsorption of dietary folate (pteroylglutarnates) in adult celiac disease and dermatitis herpetiformis. *Br Med J* 1970; 4: 85-89.
18. Ater JL, Herbst JJ, Landaw SA, O'Brien RT. Relative anemia and iron deficiency in cystic fibrosis. *Pediatrics* 1983; 71: 810-14.
19. Keller J, Aghdassi AA, Lerch MM, Mayerle JV, Layer P. Tests of pancreatic exocrine function - clinical significance in pancreatic and non-pancreatic disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009; 23: 425-39.
20. Dumasy V, Delhaye M, Cotton F, Deviere J. Fat malabsorption screening in chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1350-54.
21. Levine JJ, Seidman E, Walker WA: Screening tests for enteropathy in children. *Am J Dis Child* 1987; 141; 435-38.
22. Deutsch JE, Santhosh-Kumar CR, Kolli VR. A noninvasive stable-isotope method to simultaneously assess pancreatic exocrine function and small bowel absorption. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 2182-85.
23. Borowitz DS, Grand RJ, Durie PR and the Consensus Committee. Use of pancreatic enzyme supplements for patients with cystic fibrosis in the context of fibrosing colonopathy. *J Pediatr* 1995; 127: 681-84.
24. Shiner M, Doniach I. Histopathologic studies in steatorrhea. *Gastroenterology* 1960; 38: 419-40.
25. Dicke WM, Weijers HA, Van de Kamer JK. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. *Acta Paediatr Scand* 1953; 42: 34-42.
26. Meeuwisse GW Diagnostic criteria in coeliac disease. *Acta Paediatr Scand* 1970; 59: 461-63.
27. Srinivasan U, Leonard N, Jones E, Kasarda DD, Weir DG, O'Farrelly C, Feighery C. Absence of oats toxicity in adult coeliac disease. *BMJ* 1996; 313: 1300-01.
28. Cardones AR, Hall RP 3rd. Management of dermatitis herpetiformis. *Dermatol Clin* 2011; 29: 631-35.
29. Troncone R, Auricchio S, De Vincenzi M, Donatiello A, Farris E, Silano V. An analysis of cereals that react with serum antibodies in patients with coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987; 6: 346-50.
30. Sturgess R, Day P, Ellis HI, Lundin KE, Gjertsen HA, Kontakou M, Ciclitira PJ. Wheat peptide challenge in coeliac disease. *Lancet* 1994; 343: 758-61.
31. Mitea C, Salentijn EM, van Veelen P, Goryunova SV, van der Meer IM, van den Broeck HC, Mujico JR, Monserrat V, Gilissen LJ, Drijfhout JW, Dekking L, Koning F, Smulders MJ. A universal approach to eliminate antigenic properties of alpha-gliadin peptides in celiac disease. *PLoS One* 2010 Dec 16;5(12):e15637.
32. Ivarsson A, Högborg L, Stenhammar L; Swedish Childhood Coeliac Disease Working Group. The Swedish Childhood Coeliac Disease Working Group after 20 years: history and future. *Acta Paediatr* 2010; 99: 1429-31.
33. Plot L, Amital H. Infectious associations of celiac disease. *Autoimmun Rev* 2009; 8: 316-19.
34. Hervonen K, Hakanen M, Kaukinen K, Collin P, Reunala T. First-degree relatives are frequently affected in coeliac disease and dermatitis herpetiformis. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 51-55.

35. Polanco I, Biemond I, van Leeuwen A. Gluten-sensitive enteropathy in Spain: genetic and environmental factors. En: McConnell RB, editor. Genetics of coeliac disease. Lancaster, UK, MTP Press, 1981; 211-31.
36. Sollid LM, Qiao SW, Anderson RP, Gianfrani C, Koning F. Nomenclature and listing of celiac disease relevant gluten T-cell epitopes restricted by HLA-DQ molecules. Immunogenetics 2012 Feb 10. [Epub]
37. Fallang LE, Bergseng E, Hotta K, Berg-Larsen A, Kim CY, Sollid LM. Differences in the risk of celiac disease associated with HLA-DQ2.5 or HLA-DQ2.2 are related to sustained gluten antigen presentation. Nat Immunol 2009; 10: 1096-101.
38. Ploski R, Ek R, Thorsby E, Sollid LM. On the HLA-DQ (alpha 1*0501, beta 1*0201)-associated susceptibility in celiac disease: a possible gene dosage effect of DQB1*0201. Tissue Antigens 1993; 41:173-77.
39. Greco L, Timpone L, Abkari A, Abu-Zekry M, Attard T, Bouguerrà F, Cullufi P, Kansu A, Micevic-Turk D, Mišak Z, Roma E, Shamir R, Terzic S. Burden of celiac disease in the Mediterranean area. World J Gastroenterol 2011; 17: 4971-78.
40. Scoglio R, Sorletti D, Magazzù G, Cavallo R. Celiac disease case finding in children in primary care. J Pediatr 2002; 140: 379-80.
- 40b. Kamin DS, Furuta GT. The iceberg cometh: establishing the prevalence of celiac disease in the United States and Finland. Gastroenterology 2004; 126: 359-61.
41. Cash BD, Rubenstein JH, Young PE, Gentry A, Nojkov B, Lee D, Andrews AH, Dobhan R, Chey WD. The prevalence of celiac disease among patients with nonconstipated irritable bowel syndrome is similar to controls. Gastroenterology 2011; 141: 1187-93.
42. Halstensen TS, Brandtzaeg P. Activated T lymphocytes in the celiac lesion: nonproliferative activation (CD25) of CD4 + alpha/beta cells in the lamina propria but proliferation (Ki-67) of alpha/beta and gamma/delta cells in the epithelium. Eur J Immunol 1993; 23: 505-10.
43. Huan J, Meza-Romero R, Mooney JL, Vandenbark AA, Offner H, Burrows GG. Single-chain recombinant HLA-DQ2.5/peptide molecules block α 2-gliadin-specific pathogenic CD4+ T-cell proliferation and attenuate production of inflammatory cytokines: a potential therapy for celiac disease. Mucosal Immunol 2011; 4: 112-20.
44. Halstensen TS, Scott H, Brandtzaeg P. Intraepithelial T cells of the TCR gamma/delta+ CD8- and V delta 1/J delta 1+ phenotypes are increased in celiac disease. Scand J Immunol 1989; 30: 665-72.
45. Picarelli A, Maiuri L, Frate A, Greco M, Auricchio S, Londei M. Production of antiendomysial antibodies after in-vitro gliadin challenge of small intestinal biopsy samples from patients with celiac disease. Lancet 1996; 348: 1065-67.
46. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nat Med 1997; 3: 797-801.
47. Maiuri L, Picarelli A, Boirivant M, Coletta S, Mazilli MC, De Vincenzi M, Londei M, Auricchio S. Definition of the initial immunologic modifications upon in vitro gliadin challenge in the small intestine of celiac patients. Gastroenterology 1996; 110: 1368-78.
48. Maiuri L, Troncone R, Mayer M, Coletta S, Picarelli A, De Vincenzi M, Pavone V, Auricchio S. In vitro activities of A-gliadin-related synthetic peptides: damaging effect on the atrophic celiac mucosa and activation of mucosal immune response in the treated celiac mucosa. Scand J Gastroenterol 1996; 31: 247-53.

49. Holm K, Mäki M, Savilahti E, Lipsanen V, Laipala P, Koskimies S. Intraepithelial gamma/delta T cell receptor lymphocytes and genetic susceptibility to coeliac disease. *Lancet* 1992; 339: 1500-03.
50. Holm K, Savilahti E, Koskimies S, Lipsanen V, Mäki M. Immunohistochemical changes in the jejunum in first-degree relatives of patients with coeliac disease and the coeliac disease marker DQ genes: HLA class II antigen expression, interleukin-2 receptor-positive cells, and dividing crypt cells. *Gut* 1994; 35: 55-60.
51. Picarelli A, Maiuri L, Mazzilli MG, Coletta S, Ferrante P, Di Giovambattista F, Greco M, Torsoli A, Auricchio S. Gluten-sensitive disease with mild enteropathy. *Gastroenterology* 1996; 111: 608-16.
52. Mäki M, Kallonen K, Lähdeaho ML, Visakorpi JK: Changing pattern of childhood coeliac disease in Finland. *Acta Paediatr Scand* 1988; 77: 408-12.
53. Troncone R, Kosova R. Short stature and catch-up growth in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 51 Suppl 3: S137-38.
54. Salmi TT, Hervonen K, Kautiainen H, Collin P, Reunala T. Prevalence and incidence of dermatitis herpetiformis: a 40-year prospective study from Finland. *Br J Dermatol* 2011; 165: 354-59.
- 54b. Amil Días J, Walker-Smith J. Down's syndrome and coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990; 10: 41-43
55. Harper E, Moses H, Lagrange A. Occult celiac disease presenting as epilepsy and MRI changes that responded to gluten-free diet. *Neurology* 2007; 68: 533-34.
56. Rewers M, Eisenbarth GS. Autoimmunity: Celiac disease in T1DM-the need to look long term. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 8: 5-8.
57. Wouters J, Weijerman ME, van Furth AM, Schreurs MW, Crusius JB, von Blomberg BM, de Baaij LR, Broers CJ, Gemke RJ. Prospective human leukocyte antigen, endomysium immunoglobulin A antibodies, and transglutaminase antibodies testing for celiac disease in children with Down syndrome. *J Pediatr* 2009; 154: 239-42.
58. Duerksen DR, Wilhelm-Boyles C, Veitch R, Kryszak D, Parry DM. A comparison of antibody testing, permeability testing, and zonulin levels with small-bowel biopsy in celiac disease patients on a gluten-free diet. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1026-31.
59. Troncone R, Caputo N, Micillo M, Maiuri L, Poggi V. Immunologic and intestinal permeability tests as predictors of relapse during gluten challenge in childhood coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 144-47.
60. Giannotti A, Tiberio G, Castro M, Virgili F, Colistro F, Ferretti F, Digilio MC, Gambarara M, Dallapiccola B. Coeliac disease in Williams syndrome. *J Med Genet* 2001; 38: 767-68.
61. Bürgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic F, Huber H, Lentze MJ, Nusslé D, Reymond-Berthet C. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Arch Dis Child* 1991; 66: 941-47.
62. Ferreira M, Lloyd Davies S, Butler M, Scott D, Clark M, Kumar P. Endomysial antibody: is it the best screening test for coeliac disease? *Gut* 1992; 33: 1633-37.
63. Volta U, Molinaro N, Fusconi M, Cassani F, Bianchi FB. IgA antiendomysial antibody test. A step forward in coeliac disease screening. *Dig Dis Sci* 1991; 36:752-56.
64. Katz KD, Rashtak S, Lahr BD, Melton LJ 3rd, Krause PK, Maggi K, Talley NJ, Murray JA. Screening for celiac disease in a North American po-

- pulation: sequential serology and gastrointestinal symptoms. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1333-39.
65. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK: Revised criteria for the diagnosis of coeliac disease. *Arch Dis Child* 1990; 65: 909-11.
66. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Mäki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 136-160.
67. Ribes-Koninckx C, Mearin ML, Korponay-Szabó IR, Shamir R, Husby S, Ventura A, Branski D, Catassi C, Koletzko S, Mäki M, Troncone R, Zimmer KP on behalf of the ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 15-19.
68. Kurppa K, Saminiemi J, Ukkola A, Saavalainen P, Löytynoja K, Laurila K, Collin P, Mäki M, Kaukinen K. Utility of the new ESPGHAN criteria for the diagnosis of celiac disease in at-risk groups. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 387-91
69. Mayer M, Greco L, Troncone R, Grimaldi M, Pansa G. Early prediction of relapse during gluten challenge in childhood coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 8: 474-79.
70. Godfrey JD, Brantner TL, Brinjikji W, Christensen KN, Brogan DL, Van Dyke CT, Lahr BD, Larson JJ, Rubio-Tapia A, Melton LJ 3rd, Zinsmeister AR, Kyle RA, Murray JA. Morbidity and mortality among older individuals with undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology* 2010; 139: 763-69.
71. Biagi F, Corazza GR. Mortality in celiac disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010; 7: 158-62.

Fisiología hepática

Juan Pablo Arancibia Poch, Sandra Hirsch Birn y Jaime Poniachik Teller

La estructura del hígado

El hígado es la masa de tejido glandular más grande del organismo, con un peso aproximado de 1.500 gramos en el adulto. El órgano está rodeado por una lámina de tejido conjuntivo fibroso, la cápsula de Glisson, que está recubierta a su vez por peritoneo excepto en las áreas donde el órgano está adherido al diafragma y a la pared posterior de la cavidad abdominal. Desde el punto anatómico, el hígado está dividido en dos lóbulos mayores (derecho e izquierdo) y dos lóbulos menores (cuadrado y caudal o de Spiegel). El órgano puede ser subdividido también en segmentos de acuerdo con criterios quirúrgicos y funcionales. Estas divisiones tienen por base a la circulación sanguínea y al drenaje biliar, respectivamente; estos conceptos son importantes desde el punto de vista clínico y, sobre todo, quirúrgico.

La unidad estructural del tejido hepático es el lobulillo hepático. El lobulillo hepático clásico (Figura 1) es un prisma de base hexagonal que mide unos 0,7 - 1 mm de diámetro y está formado por láminas de hepatocitos anastomosadas entre sí, separadas por sinusoides que las irrigan con una mezcla de sangre venosa portal, que proviene de las vísceras abdominales, y sangre arterial proporcionada por la arteria hepática. Los sinusoides confluyen en la vena central del lobulillo y están revestidos por endotelio-citos que forman una pared discontinua en la que intervienen también macrófagos (células de Küpfer) (Figura 2). Entre los sinusoides y los hepatocitos se genera un espacio, denominado de Disse, que tam-

bién alberga a las células de Ito, similares a las células Küpfer y que almacenan vitamina A, así como a escasos elementos celulares del tejido conectivo. Las venas centrales de los lobulillos se vacían en venas sublobulares que confluyen en vasos de calibre

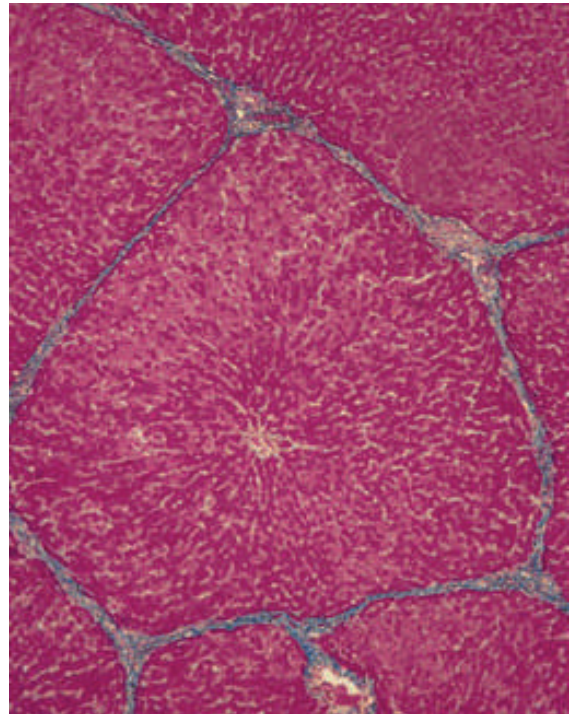


Figura 1. Lobulillo hepático de cerdo. Está delimitado por láminas de tejido conjuntivo que lo separan de los lobulillos adyacentes. En su estructura se observan las láminas de hepatocitos, los sinusoides que las separan, la vena central y los espacios portales, interlobulillares, de forma aproximadamente triangular. Tinción de Mallory-Azán. Original X 20.

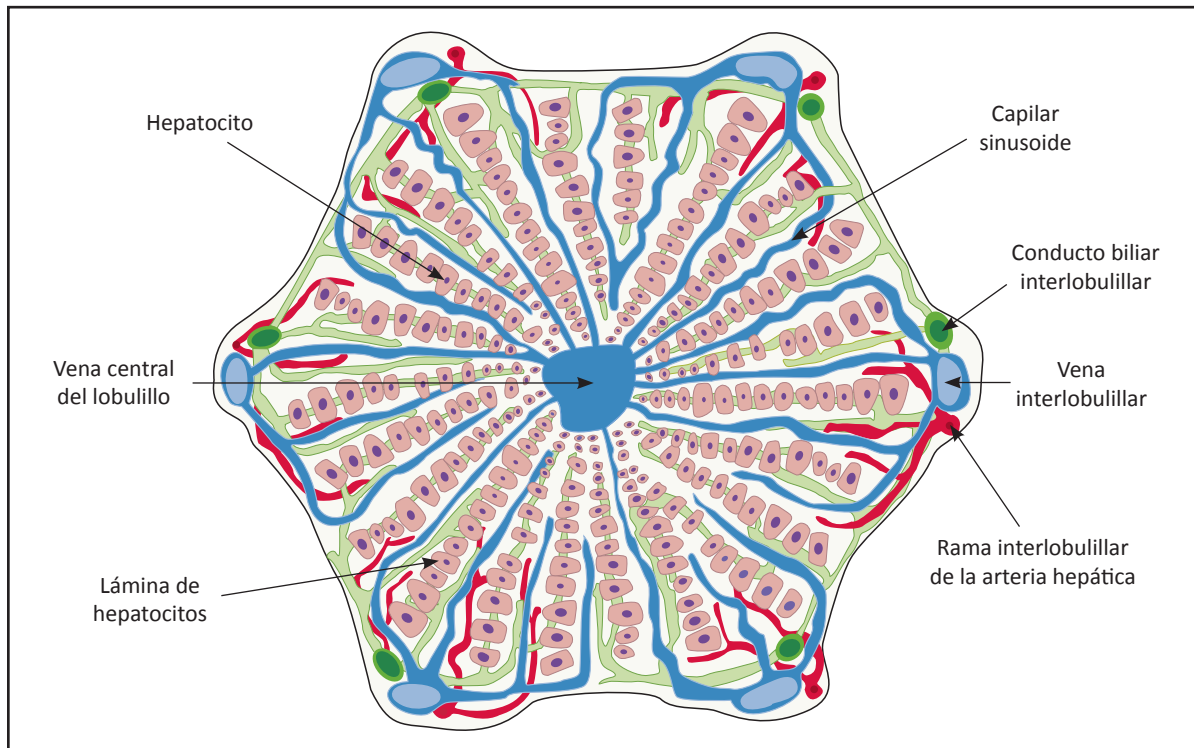


Figura 2. Esquema de la sección transversal de un lobulillo hepático. Se observa su forma aproximadamente hexagonal, las láminas de hepatocitos, los sinusoides y la vena central, las ramas de la arteria hepática y los componentes iniciales de la vía biliar.

progresivamente mayor hasta que en la cara posterior del hígado, forman las venas suprahepáticas que desembocan en la cava inferior. En cada uno de los ápices del lobulillo hepático hay un espacio portal compartido con dos lobulillos contiguos: cada espacio contiene una cantidad reducida de tejido conectivo y los vasos que aportan la irrigación portal además de ramas de la arteria hepática, de la circulación linfática y de la vía biliar. El tejido conectivo del espacio portal está conectado en último término con la cápsula de Glisson. En el ser humano el tejido conectivo es tan escaso que los límites de los lobulillos quedan mal definidos; en cambio, en algunas especies animales, como el cerdo, cada lobulillo está claramente delimitado por una lámina de tejido conectivo (Figura 1).

Además de la arquitectura clásica (Figura 3), el lobulillo hepático puede ser representado según otros criterios que dependen del tipo de estructura que se considere como central en su arquitectura. Si se considera a la vena central como el elemento que estructura al lobulillo éste tiene forma triangular, sus ángulos son ocupados por las venas centrales de tres lobulillos contiguos y en su centro geométrico hay un espacio portal. Si la estructura del lobulillo hepático está basada en el concepto del acino hepático, éste es una estructura de forma oval en que participan dos lobulillos contiguos; las venas centrales de los lobulillos ocupan los extremos del eje mayor del óvalo y el eje transversal une los dos espacios portales compartidos por ambos lobulillos contiguos y es perpendicular al anterior.

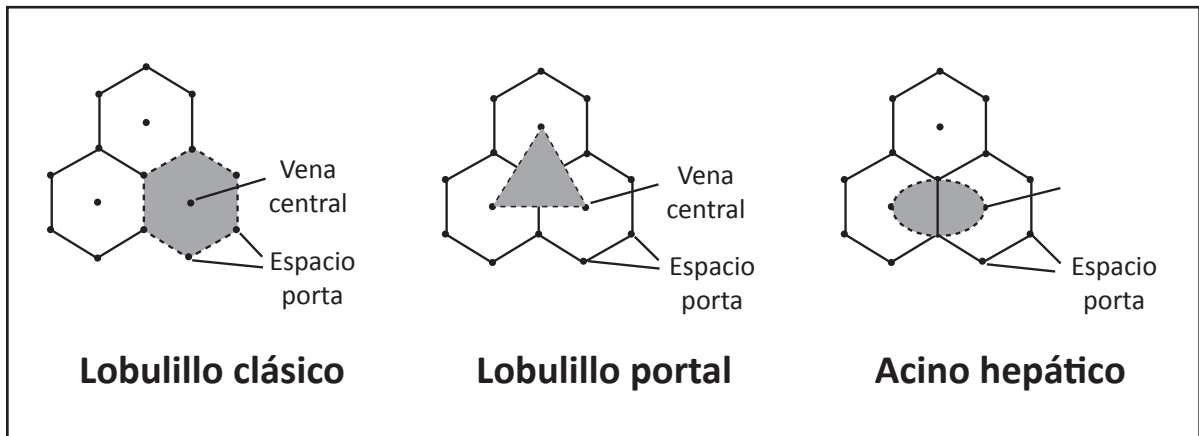


Figura 3. Representación esquemática de los modelos clásico, portal y de acino hepático de la estructura del hígado. El área sombreada representa el territorio de cada unidad en relación con la organización del órgano y su función. El lóbulo clásico tiene a la vena central (vécula hepática terminal) como estructura central y a los espacios portales, que contienen la triada portal en los ángulos periféricos. El lóbulo portal tiene un espacio portal en el centro del lobulillo y venas centrales en los vértices. El acino hepático tiene venas centrales del lobulillo en cada polo y espacios portales en su ecuador.

El hepatocito (Figura 4) es una célula poligonal con un núcleo central voluminoso y esférico que contiene un nucléolo prominente. El citoplasma está ocupado por abundantes cisternas paralelas del retículo endoplásmico rugoso y numerosos ribosomas libres. Existe continuidad entre el retículo endoplásmico rugoso y las cisternas del retículo endoplásmico liso. Estas últimas están unidas entre sí, formando una red en cuyos espacios libres se acumulan gránulos formados por partículas de glicógeno dispuestas en roseta, las llamadas partículas alfa; existen también partículas de glicógeno aisladas que se denominan partículas beta. En las proximidades de los canalículos biliares, el aparato de Golgi contiene partículas de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) aisladas o agrupadas en vesículas. El citoplasma contiene también abundantes mitocondrias y números menores de peroxisomas y lisosomas; estos últimos pueden contener remanentes de organelos cuya estructura se encuentra en distintos estadios de degradación. En la superficie de los hepatocitos, en relación con el lumen de los sinusoides, la membrana plasmática de los hepatocitos forma microvellosidades dispuestas de manera irregular.

La vía biliar se inicia como un canalículo en forma de asa, sin paredes propias, dispuesto entre las caras de dos hepatocitos en contacto entre sí. Estos conductillos miden 0,5 μm de diámetro y están sellados y separados del espacio intercelular por uniones estrechas (zónula ocludens), intermedias (zónula adhaerens) y desmosomas. En relación con el lumen del capilar biliar, el citoplasma de los hepatocitos también forma microvellosidades dispuestas irregularmente. El flujo biliar va desde la zona central del lobulillo clásico, hacia su periferia, donde los canalículos se unen a nivel de los espacios portales en conductos interlobulillares, cuyo diámetro aumenta progresivamente a medida que se acercan al hilio hepático hasta formar los conductos hepáticos izquierdo y derecho, que se unen a su vez para dar origen al colédoco. Este último desemboca en el duodeno y tiene una derivación lateral hacia la vesícula biliar por medio del conducto cístico. En la desembocadura del colédoco en el duodeno, hay un esfínter verdadero que regula el vaciamiento de la bilis al lumen del intestino.

El hígado representa una verdadera encrucijada química en el organismo ya que interviene en una

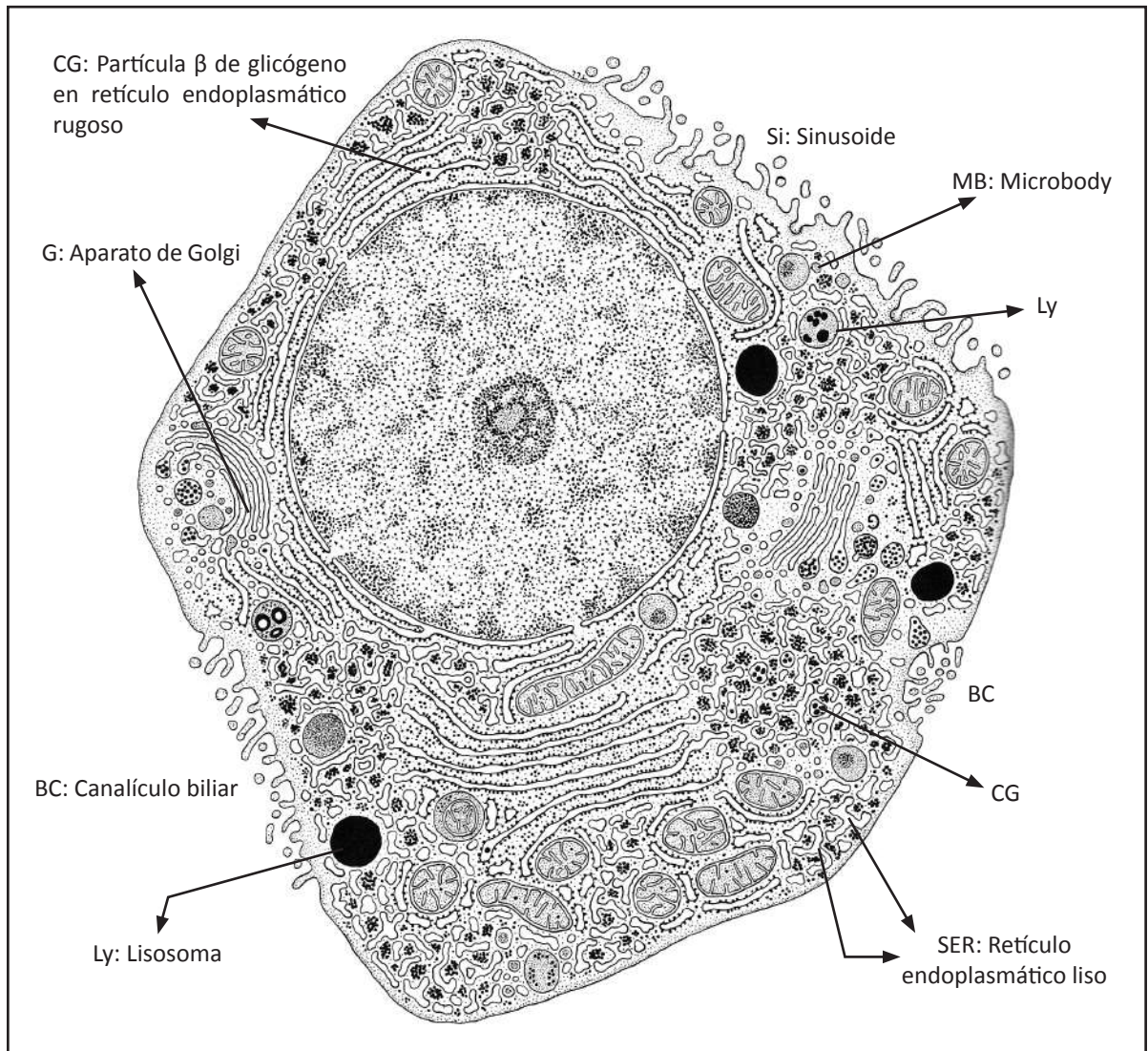


Figura 4. Esquema de la estructura del hepatocito. Es una célula poligonal con un núcleo esférico que contiene un nucléolo voluminoso. El esquema ilustra los componentes ultraestructurales, tales como el retículo endoplásmico, el aparato de Golgi, ribosomas, peroxisomas, lisosomas, depósitos de glucógeno y las diferenciaciones de la membrana plasmática a nivel de los capilares sinusoides y el canalículo biliar.

muchas de las reacciones que participan en el metabolismo de los principales nutrientes: glúcidos, lípidos y proteínas, en el metabolismo de otros nutrientes, como los ácidos nucleicos, los antioxidantes, participa en la regulación del metabolismo hidroelectrolítico, almacena y libera vitaminas y microminerales,

metaboliza hormonas, sintetiza enzimas y factores de crecimiento, quimioquinas y diversos otros mensajeros peptídicos. A esto hay que agregar la síntesis y metabolismo de las sales y pigmentos biliares, que se discuten más abajo. La figura 5 muestra en forma muy simplificada algunos de estos aspectos.

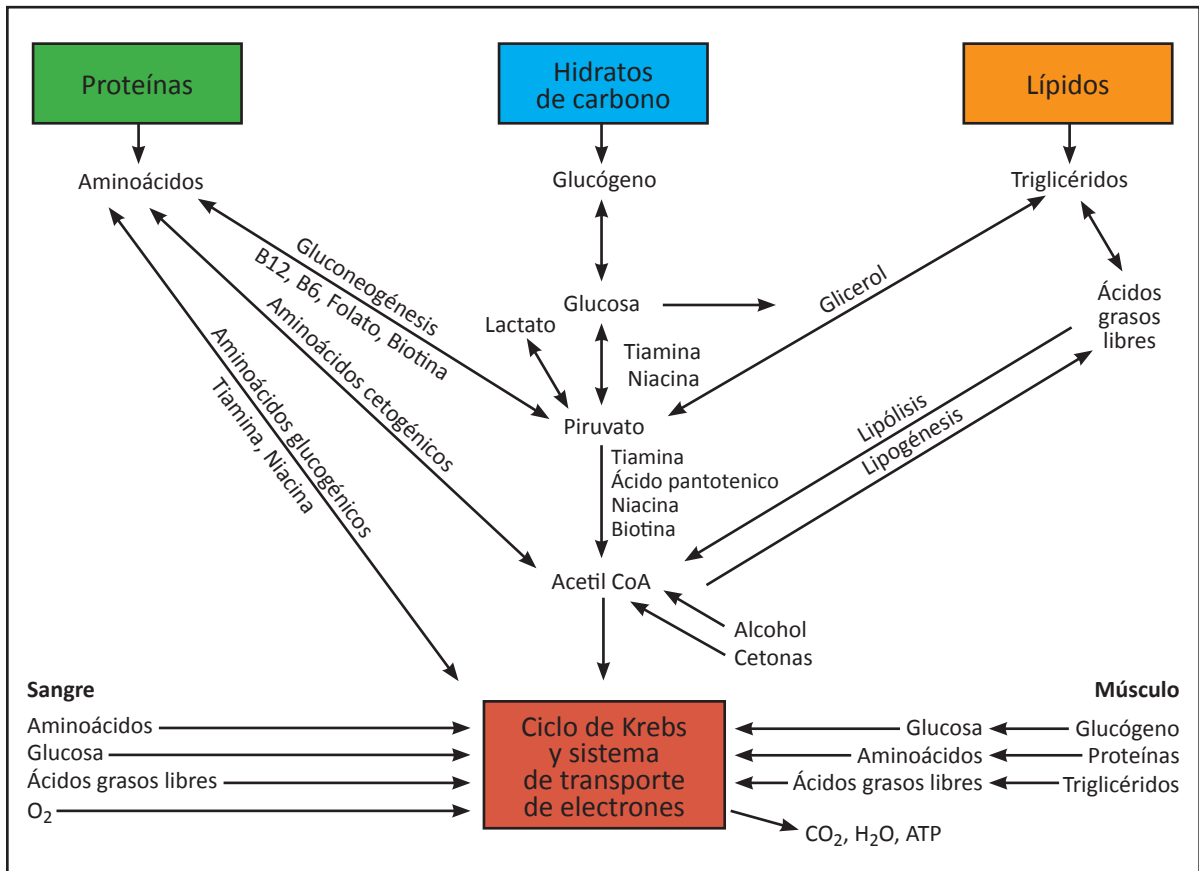


Figura 5. Interrelaciones entre los hidratos de carbono, proteínas y lípidos en el metabolismo hepático humano.

Fisiología de los ácidos y sales biliares

La síntesis, secreción y reutilización de las sales biliares representan funciones hepáticas cruciales para la homeostasis metabólica. Las sales biliares forman dos terceras partes de los compuestos orgánicos de la bilis de los mamíferos y se reutilizan continuamente a través de su circulación enterohepática. Constituyen importantes moléculas de señalización hepática e intestinal y contribuyen al fortalecimiento de la inmunidad en el intestino delgado, a través de mecanismos dependientes del receptor farnesoide X (FXR), e intervienen en la formación de bilis

hepatobiliar mediante la liberación de la hormona peptídica factor 19 de crecimiento de fibroblastos (FGF19), controlada por FXR en el íleon (1-3). En el hígado, las sales biliares regulan directamente su captación hepatocelular y su propia síntesis y secreción (4-6). Sus funciones pueden resultar seriamente comprometidas bajo condiciones patológicas que pueden afectar estos procesos. A la luz de los conocimientos actuales, las sales biliares son consideradas como los principales agentes causales de daño celular en los hepatocitos y colangiocitos durante la colestasis (1, 7).

Síntesis y propiedades químicas de las sales biliares

En el ser humano las sales biliares primarias, el colato (C) y el quenodesoxicolato (CDC) son sintetizadas por los hepatocitos mediante la 7-hidroxilación del colesterol por una hidroxilasa específica. Sobre esta enzima actúan a su vez los productos finales de este proceso, que regulan la síntesis por inhibición. A partir de este compuesto, y por sucesivas hidroxilaciones, se obtiene colil-CoA, el intermediario de todos los ácidos biliares. Las sales biliares se forman debido a que el grupo carboxilo terminal de la cadena lateral activada reacciona con el grupo amino de la glicina o de la taurina (ver capítulo 7). Éstas son moléculas anfipáticas más hidrofílicas que el colesterol, por lo que pueden formar micelas que participan en la absorción de las grasas y las vitaminas liposolubles en el intestino (1, 4, 8). Las sales biliares no conjugadas tienen un pK_a de aproximadamente 5. La hidroxilación con taurina o glicina reduce el pK_a de las sales biliares aumentando su solubilidad en el agua y disminuyendo su capacidad para atravesar membranas lipídicas (9, 10). Los alcoholes biliares C27 se conjugan con sulfato y las sales biliares C27 con taurina. Las sales biliares C24 se conjugan principalmente con taurina o glicina y en menor medida con glucuronato, N-acetilglucosamina o sulfato (1). Dentro de los márgenes fisiológicos de pH, la mayor parte de las sales biliares están presentes en su forma desprotonada, pero en circunstancias en que existe mayor concentración de ácido predomina en la forma protonada (ácidos biliares). Las sales biliares ionizadas son más anfipáticas, más solubles en agua y constituyen un emulsionante más potente que los ácidos biliares protonados, lo que permite la formación de micelas mixtas. En un margen de pH entre 5 y 7 en el lumen del duodeno, la conjugación con glicina o taurina aumenta la proporción de sales biliares ionizadas por sobre la concentración de ácidos biliares protonados. La taurina y la glicina conjugadas con las sales biliares son resistentes a la hidrólisis enzimática por las esterasas pancreáticas (1).

Todas estas características favorecen la absorción de grasas en el intestino; sin embargo, también pueden ser potencialmente nocivas para la integridad de la membrana celular en situaciones en que se produce colestasis.

Los ácidos y las sales biliares participan en un ciclo de circulación enterohepática que opera entre 10 y 12 veces al día. Durante cada paso de este ciclo una pequeña cantidad de los ácidos biliares primarios llega al colon, donde las bacterias anaerobias que poseen enzimas con actividad 7- α -hidroxilasa, forman ácidos biliares secundarios. Así, el ácido cólico es convertido en ácido desoxicólico, que es reabsorbido y vuelto a conjugar en su mayor parte. Los conjugados del ácido quenodesoxicólico son convertidos en el colon en su forma de ácido biliar secundario, el ácido litocólico. Parte de este ácido biliar secundario insoluble también es reabsorbido, contribuyendo a la formación de sales biliares terciarias, como el ursodesoxicolato (UDC) o, en su forma protonada, al ácido ursodesoxicólico; el resto se pierde en las heces (11).

Composición del pool de sales biliares

La composición del pool de sales biliares es el resultado de un proceso dinámico. Esto porque es influido por la síntesis hepática de las sales biliares primarias y por su metabolismo hepático e intestinal. La contribución relativa de las sales biliares primarias y secundarias al pool puede variar, dependiendo de los mecanismos de regulación y de factores ambientales. En el ser humano, el UDC se forma por acción de las bacterias del colon a partir de la sal biliar primaria, el CDC. Su síntesis se produce a través de un intermediario llamado 7-quetolitolcolato y, por lo tanto, el UDC es una sal biliar de origen terciario. Esta sal biliar representa aproximadamente entre el 1 y el 3% de las sales biliares (1). El C, CDC y el DC constituyen más del 95% de las sales biliares, y casi todas están en forma conjugada. La proporción de LC y UDC es muy variable, pero rara vez supera el 5%. Cuando se lo administra en dosis terapéuticas,

la proporción de UDC en la bilis puede aumentar en un 40 a 65%. Las sales biliares fecales (LC y DC) están no conjugadas casi en su totalidad como resultado de la acción de las enzimas de las bacterias presentes en el íleon distal (12).

En los adultos, el pool de sales biliares es de 3 a 5g y se mantiene estable principalmente mediante un proceso de retroalimentación negativa desencadenado por su síntesis. Esto ocurre en particular porque se inhibe la actividad y la expresión de CYP7A1 (8). CYP7A1 y CYP8B1, las enzimas claves en la síntesis de las sales biliares, están reguladas estrictamente a nivel transcripcional y post-transcripcional.

Principios generales de la secreción biliar

La secreción biliar representa la función hepática exocrina y es llevada a cabo por los hepatocitos y colangiocitos. La bilis tiene varias funciones fisiológicas importantes, incluyendo la digestión y la absorción de lípidos, la eliminación de endo y xenobióticos así como propiedades antibacterianas e inmunológicas que se llevan a cabo en el intestino. La excreción de las sales y ácidos biliares está regulada por la ATP-binding cassette (ABC), transportadores ubicados en la membrana canalicular de los hepatocitos y representa el paso limitante en la formación de la bilis. Los ácidos biliares promueven la excreción canalicular de fosfolípidos y colesterol para la formación posterior de micelas mixtas de sales biliares y arrastran agua osmóticamente a través de las acuaporinas y de las uniones estrechas. La excreción canalicular de glutatión reducido y de bicarbonato, representa los principales componentes “no ácidos biliares” del flujo biliar. La bilis canalicular es modificada a lo largo de los conductos biliares por procesos de secreción y absorción. Muchos compuestos biliares, incluyendo las sales y los ácidos biliares, están sometidos a ciclos de circulación enterohepática. Esto reduce la pérdida fecal de ácidos biliares a sólo el 3 a 5% por día y minimiza la necesidad de su síntesis *de novo*. Los ácidos biliares presentes en la circulación sistémica y que escapan a la circulación enterohepática son filtrados

en los glomérulos y reabsorbidos por transportadores en el túbulo contorneado proximal (13).

Transporte hepatocelular de las sales biliares

Las sales biliares que se concentran en la bilis se originan de dos fuentes: la síntesis directa por los hepatocitos y su reutilización a través de la circulación enterohepática. A través de esta última, las sales biliares absorbidas en el íleon, pasan a la circulación portal y son entregadas en la región basolateral del hepatocito. Las sales biliares son captadas por la vía de la proteína cotransportadora de taurocolato de Na⁺ (NTCP) o ingresan al hepatocito a través de la absorción independiente de Na⁺ mediante uno de los polipéptidos transportadores de aniones orgánicos (OATPs, particularmente OATP1B1 y OATP1B3) (13). Una vez ubicadas en la membrana apical hepatocelular, las sales biliares son secretadas por la bomba de exportación de sales biliares, BSEP, que es codificada por el gen ABCB11 (14, 15).

Composición de la bilis

La bilis de origen hepático es un líquido isotónico cuya composición electrolítica es similar a la del plasma. La composición electrolítica de la bilis vesicular difiere de aquella de la bilis hepática porque gran parte de los aniones inorgánicos, cloruro y bicarbonato han sido eliminados por un proceso de reabsorción a través del epitelio de la vesícula. Como resultado de la reabsorción de agua a este nivel, la concentración de solutos totales en la bilis aumenta de 3 a 4 g/100 ml en la bilis hepática a 10 a 15 g/100 ml en la bilis vesicular.

Los principales solutos que componen la bilis, según su porcentaje molar, son los ácidos biliares (80%), la lecitina y cantidades menores de otros fosfolípidos (16%) y de colesterol no esterificado (4%). En la bilis litógena la cifra de colesterol puede llegar a 8 o 10%. Otros constituyentes son la bilirrubina conjugada, proteínas (inmunoglobulinas, seroalbúmina,

metabolitos de algunas hormonas y otras proteínas metabolizadas en el hígado), electrolitos, mucus y a menudo fármacos y sus metabolitos.

La secreción total de bilis hepática es de aproximadamente 500 a 600 ml por día. Muchas sustancias captadas o sintetizadas por los hepatocitos son secretadas en los canalículos biliares, donde la membrana canalicular forma microvellosidades y se asocia con microfilamentos de actina, microtúbulos y otros elementos contráctiles. Previamente a su secreción en la bilis, muchas sustancias captadas por los hepatocitos son conjugadas, en tanto que otras como los fosfolípidos, una parte de los ácidos biliares primarios y parte del colesterol, son sintetizados *de novo*. Hay tres mecanismos importantes para la regulación del flujo biliar: 1) el transporte activo de los ácidos biliares desde los hepatocitos a los canalículos; 2) el transporte activo de otros aniones orgánicos y, 3) la secreción colangiocelular. Este último fenómeno es regulado por una secretina y depende del monofosfato de adenosina (AMP) cíclico que, en última instancia, induce la secreción de sodio y bicarbonato hacia el interior del conductillo (1, 16, 17).

Circulación enterohepática de las sales biliares

Después de su secreción a través de la bilis, las sales y alcoholes biliares son reciclados en el intestino delgado. Durante el ciclo enterohepático, las sales biliares son absorbidas desde el lumen intestinal y posteriormente son transportadas al hígado por la vena porta, donde son reabsorbidas por los hepatocitos y secretadas nuevamente a la bilis (18). El mediador clave en la absorción intestinal de las sales biliares es el cotransportador de sales biliares dependiente de Na⁺ (ASBT) que se expresa en la región apical de los enterocitos, principalmente en el íleon terminal y en menor cuantía en el yeyuno (1). En pacientes con colestasis se ha observado una marcada disminución en la expresión del ASBT en comparación con los controles y los niveles de su RNAm se correlacionaron inversamente con las

concentraciones plasmáticas de bilirrubina y de sales biliares (19). Este efecto refleja la regulación transcripcional de la expresión del ASBT por el sensor de sales biliares, FXR. Ost α -Ost β y MRP3 (codificados por el gen ABCB3) son dos transportadores ubicados en la membrana basolateral del enterocito y se cree que movilizan las sales biliares reabsorbidas hacia la circulación mesentérica favoreciendo su reutilización (20, 21).

Defectos de la síntesis de sales y ácidos biliares

Los defectos de la síntesis de los ácidos biliares son trastornos genéticos poco frecuentes, que dan cuenta de aproximadamente el 1% -2% de los trastornos colestásicos en los niños (23), y su herencia es autosómica recesiva. La enfermedad hepática asociada con ellos puede variar de leve a grave dependiendo de la alteración en particular. La presentación clínica más frecuente es la colestasis progresiva en la infancia, pero existen otras manifestaciones clínicas, como la insuficiencia hepática en el nacimiento, la hepatitis neonatal o el desarrollo de la enfermedad hepática en la infancia tardía. Cuando el defecto enzimático resulta en una acumulación de tóxicos monohidroxilados y/o ácidos oxo-biliares insaturados, el trastorno se manifiesta como un síndrome colestásico que suele progresar rápidamente a la insuficiencia hepática y la cirrosis. Evidencia reciente sugiere que ciertas enfermedades hepáticas colestásicas en adultos, también pueden ser debidas a defectos hereditarios de la biosíntesis de los ácidos biliares (8, 24, 25).

El diagnóstico precoz es fundamental, debido a que varios de estos trastornos pueden ser tratados con la administración de ácidos biliares, como el ácido ursodesoxicólico. Este tratamiento tiene un doble propósito: por un lado reemplazar los ácidos biliares primarios esenciales ausentes y, en segundo lugar, disminuir en los hepatocitos la síntesis de ácidos biliares por retroalimentación negativa, lo que reduce la producción anormal de los metabolitos intermedios tóxicos (8).

Se han detectado defectos hereditarios en ocho de las enzimas que participan en la biosíntesis de los ácidos biliares: CYP7A1, CYP27A1, CYP8B1, HSD3B7, AKR1C4, AMACR, EHHADH y el coenzima del ácido biliar A (BAAT). En algunos casos, un defecto en una única enzima no es suficiente para que se dejen de producir todos los ácidos biliares debido a que existen múltiples vías biosintéticas. El defecto más frecuente de la síntesis de ácidos biliares, es la deficiencia de 3β -hidroxi-C27-esteroide oxidorreductasa (HSD3B7), que se caracteriza por colestasis intrahepática progresiva, con acumulación de ácidos biliares anormales. La bomba de exportación BSEP (ABCB11) transporta inadecuadamente estos conjugados inusuales del ácido dihidroxi- y trihidroxi-5-colenoico, que interfieren además con la secreción canalicular de otros ácidos biliares. Las manifestaciones clínicas incluyen hiperbilirrubinemia no conjugada, ictericia, aumento de las transaminasas séricas, malabsorción de lípidos y de vitaminas liposolubles, prurito y retraso del crecimiento. La evolución de la enfermedad es variable pero al final, en una gran proporción de los pacientes afectados, se produce una cirrosis con insuficiencia hepática. El tratamiento con ácidos biliares exógenos, como el ácido ursodesoxicólico, revierte las anomalías bioquímicas y puede mejorar el pronóstico (8, 12, 26).

Defectos del transporte de las sales y los ácidos biliares

La colestasis intrahepática familiar progresiva (PFIC) tiene tres formas, los tipos 1 (o enfermedad de Byler), 2 y 3. Se caracteriza por desórdenes genéticos de la secreción biliar en los que la anomalía fundamental es el transporte hepatobiliar defectuoso, directo o indirecto, de los ácidos biliares y/o fosfolípidos. De estas enfermedades, la PFIC tipo 2 es causada por una mutación del gen ABCB11; esto produce una alteración de la bomba de exportación de sales biliares, BSEP, el principal agente responsable de la secreción dependiente de ATP, de los ácidos biliares monoaniónicos a través de la membrana canalicular (8). En estos pacientes se observan altos niveles séricos de ácidos biliares en conjunto con una enfer-

medad hepática progresiva e intensa.

La variante menos grave de la PFIC tipo 2 es la colestasis intrahepática recurrente benigna (BRIC) tipo 2. Ésta es una condición caracterizada por crisis intermitentes de colestasis sin daño hepático permanente. La BRIC tipo 2 también es causada por mutaciones en el gen ABCB11, así como la PFIC 2 y la colestasis intrahepática del embarazo (8, 27-29).

Enfermedades por depósito hepático

El término “depósito” o “almacenamiento” puede ser usado para incluir diversas enfermedades que se caracterizan por la acumulación anormal o excesiva de un metabolito o sustancia en uno de los compartimentos celulares o extracelulares del hígado. Esto puede incluir su almacenamiento en los hepatocitos, las células reticuloendoteliales (células de Küpffer y otros macrófagos), las células estrelladas y otras células mesenquimales, canaliculos, conductos biliares, espacio de Disse y en los vasos sanguíneos. Además, puede indicar una enfermedad metabólica hereditaria o puede ser parte de algún otro tipo de proceso (30). Los trastornos primarios del metabolismo y las enfermedades por depósito son causados por factores endógenos, por lo general una mutación genética. Puesto que el defecto congénito está localizado predominantemente en el hígado, las enfermedades resultantes también se ponen de manifiesto en este órgano. En casi todas las enfermedades del hígado se producen trastornos secundarios del metabolismo y están presentes fenómenos por depósito. En estos trastornos, primarios o secundarios, se pueden ver afectadas casi todas sus funciones metabólicas (31). En este capítulo se revisa la fisiopatología de las enfermedades más frecuentes por depósito.

Enfermedades por depósito de proteínas

Déficit de α -1 antitripsina

El déficit de α -1-antitripsina (A1AT) se asocia con enfermedad hepática y, en algunos casos, con enfisema pulmonar. Puede afectar a niños y adultos y no tiene un tratamiento específico. Se transmite con un

patrón autosómico recesivo con expresión codominante. La enfermedad hepática asociada con la deficiencia de A1AT no se debe a la falta de función antiproteasa, sino más bien a la acumulación en las células del hígado de una forma anormal de la proteína. La forma mutante de la glicoproteína de A1AT, definida en la electroforesis como PiZ, se polimeriza en forma espontánea en el retículo endoplásmico (RE) de los hepatocitos y no puede completar su vía de secreción. La proteína acumulada puede ser extraída del RE y destruida por un proceso conocido como autofagia vesicular en el que se fusionan un autofagosoma con un lisosoma. Variaciones individuales en la eficiencia de esta vía destructiva alternativa pueden explicar la penetrancia clínica incompleta de las manifestaciones clínicas observada entre los homocigotos ZZ. La presencia de dos alelos Z está asociada independientemente con la enfermedad hepática mientras que la presencia de un solo alelo Z parece aumentar el riesgo de desarrollar una enfermedad hepática grave debido a otras causas, ya que se genera un ambiente proinflamatorio. El déficit de α -1-antitripsina es la causa hereditaria más frecuente de enfermedad hepática en los niños y se manifiesta como una hepatitis neonatal o como un síndrome colestásico. Los adultos homocigotos ZZ tienen un mayor riesgo de desarrollar cirrosis (32). El diagnóstico se realiza por la sospecha clínica, la biopsia hepática, la inmunofijación y el análisis del fenotipo, la electroforesis de las proteínas del plasma (que evidencia la disminución del nivel de alfa-1-globulina) y el nivel sérico de A1AT (con valores inferiores a 25% del límite normal).

En los pacientes con cirrosis hepática el tratamiento de elección es el trasplante hepático que, además, permite corregir el defecto metabólico.

Amiloidosis

La amiloidosis es una enfermedad sistémica que por lo general compromete histopatológicamente al hígado pero rara vez provoca síntomas. La amiloidosis primaria es producida por el depósito de cadenas livianas o fragmentos de cadenas livianas de inmunoglobulinas (amiloide AL) en el hígado o en otros

órganos; ocurre principalmente en pacientes con discrasias de las células plasmáticas, como el mieloma múltiple, la macroglobulinemia de Waldenström y algunos tumores malignos de las células B. La amiloidosis secundaria, debida al depósito de amiloide (amiloide AA), se observa en pacientes con enfermedades crónicas inflamatorias y trastornos infecciosos como la artritis reumatoídea, la espondilitis anquilosante, las bronquiectasias, la fiebre familiar mediterránea, la osteomielitis y la enfermedad de Crohn. También se ha descrito la presencia de amiloidosis en la enfermedad de Hodgkin, el cáncer del estómago y el hipernefroma. En aproximadamente 80% de estos pacientes se detecta hepatomegalia, a menudo con elevación de la fosfatasa alcalina sérica, y con menor frecuencia con transaminasas o bilirrubina elevadas. La biopsia hepática, incluso en individuos con pruebas hepáticas normales, demuestra por lo general depósitos de proteína amiloide en el parénquima (sinusoidal y perisinusoidal) o en los vasos sanguíneos (distribución periportal). La morbimortalidad de esta enfermedad se relaciona más con el compromiso de otros órganos que con el compromiso hepático. Las complicaciones de la enfermedad hepática crónica, como la hipertensión portal, son raras (33). En general, el tratamiento es exclusivamente sintomático y de la enfermedad de base.

Enfermedad por depósito de hierro (Hemocromatosis)

La hemocromatosis es una enfermedad genética autosómica recesiva que se caracteriza por una acumulación progresiva de hierro en el hígado y que evoluciona frecuentemente hasta la cirrosis. Además, puede comprometer otros órganos como el páncreas y el corazón.

En la hemocromatosis el factor patogénico central es el déficit de hepcidina, una hormona que es sintetizada y secretada por el hígado. En los individuos sanos la hepcidina regula la liberación de hierro de los macrófagos y de los enterocitos duodenales mediante su interacción con la ferroportina (FPN) que

se expresa en la superficie de esas células. Para regular la expresión de la hepcidina son necesarios los genes HFE, TfR2 y el de la hemojuvelina (HJV), que son expresados dependiendo de las necesidades de hierro del organismo. La pérdida de cualquiera de estos reguladores conduce a un aumento patológico del hierro plasmático.

El hierro es utilizado por la médula ósea para la eritropoyesis y por el músculo esquelético para su incorporación en la mioglobina y es almacenado en el hepatocito en forma de ferritina. El resto permanece en la circulación porque, aparte de la menstruación, el organismo no tiene una forma efectiva de eliminarlo. Por lo tanto, el exceso de hierro plasmático se acumulará en los tejidos causando daño a la estructura celular por estrés oxidativo.

Las características de la sobrecarga de hierro en la circulación dependen de cuál regulador de la hepcidina se ha perdido. La acumulación puede ser leve a moderada y gradual, como ocurre cuando está presente una mutación de HFE, o masiva y rápida cuando se pierde el regulador de la HJV. Esto se traduce en hemocromatosis leves (como las asociadas con la mutación del gen HFE) o más severas [asociadas con alteraciones de HJV o de la hepcidina (HAMP)]. La pérdida de TfR2 probablemente causa un nivel intermedio de deficiencia de hepcidina que produce en el adulto una sobrecarga de hierro, que se desarrolla habitualmente antes que la observada en la hemocromatosis relacionada con el HFE y es algo más grave. La hemocromatosis también puede estar asociada con mutaciones en la FPN y se manifiesta debido a que el exportador de hierro, que se encuentra en la membrana celular de los macrófagos y enterocitos, no responde al estímulo de la hepcidina. En este caso, a pesar de que la hepcidina es sintetizada y liberada adecuadamente en respuesta a los niveles crecientes de hierro en el plasma, el gen mutado de la FPN continúa liberando hierro proveniente de la dieta hacia el plasma, el que se acumula en los macrófagos.

En las etapas precoces de la enfermedad se observan elevaciones de las transaminasas acompañadas

de niveles de ferritina y de porcentajes elevados de saturación de la transferrina; en etapas más avanzadas, se observan complicaciones como la cirrosis hepática, la diabetes mellitus, el hipogonadismo, etc. El diagnóstico se realiza por la sospecha clínica, la demostración de una sobrecarga de hierro (ferritina elevada y porcentajes de saturación de transferrina iguales o mayores de 45%) y por el estudio genético del gen HFE (homocigotos C282Y o heterocigotos compuestos C282Y/H63D). La biopsia hepática es un método de gran ayuda para corroborar el diagnóstico, pero actualmente contamos con métodos no invasivos, como la resonancia magnética, que nos permite evaluar la sobrecarga de hierro en el hígado. El tratamiento se basa en la depleción del exceso de hierro a través de sangrías y de la administración de quelantes de hierro, dependiendo de la situación clínica (34).

Enfermedad por depósito de cobre (Enfermedad de Wilson)

La enfermedad de Wilson es una patología autosómica recesiva cuya prevalencia se estima en 1:30.000 personas. Es causada por una mutación del gen ATP7B (localizado en el brazo largo del cromosoma 13), que codifica una proteína transportadora de cobre que traslada el metal desde los hepatocitos hasta la bilis. Como consecuencia de esta falla, el movimiento del cobre en los hepatocitos es muy limitado, con disminución de la excreción biliar de cobre y disminución de la incorporación de cobre en la ceruloplasmina. Como la bilis es la única vía para eliminar el exceso de cobre, éste se acumula en el hígado y causa daño hepático agudo y/o crónico. La ceruloplasmina sérica está disminuida, en parte debido a la disminución de su síntesis hepática y en parte debido a la descomposición acelerada de su componente proteico cuando no está asociado con cobre. Con el tiempo, la acumulación de cobre excede la capacidad de almacenamiento del hígado y el cobre queda libre y se deposita en otros órganos, incluyendo el cerebro, los riñones y la córnea. El cobre

iónico promueve la producción de especies reactivas de oxígeno que dañan las membranas, en particular en las mitocondrias. A pesar de que la enfermedad de Wilson muestra un patrón de herencia recesiva, se diferencia de la hemocromatosis en que hay más de 300 mutaciones identificadas y la mayoría de los pacientes son heterocigotos con diferentes mutaciones en los dos alelos. La aparición de sus síntomas ocurre habitualmente, entre los 12 a 23 años. Esta enfermedad es muy rara en pacientes mayores de 40 años y puede manifestarse como una hepatitis crónica, una falla hepática fulminante o una cirrosis. Otras alteraciones frecuentes son la anemia hemolítica con test de Coombs negativo, la presencia de depresión y/o de síntomas neurológicos como espasticidad, ataxia y temblor. Ocasionalmente se observan los anillos de Kayser-Fleischer, que representan el depósito de cobre en la periferia de la cornea. La enfermedad de Wilson se debe sospechar siempre en los pacientes jóvenes con enfermedad hepática de etiología no aclarada y, especialmente, si se asocia con disminución de la ceruloplasmina y con aumentos de la excreción de cobre en la orina. El tratamiento puede ser con fármacos que inhiben la absorción de cobre, estimulantes de quelantes endógenos o que promueven la excreción de cobre por la bilis u orina (como la D-penicilamina). En los pacientes con hepatitis fulminante el tratamiento de elección es el trasplante hepático (32).

Enfermedades por depósito de glucógeno (Glucogenosis)

Las glucogenosis son alteraciones del metabolismo del glucógeno; se han descrito más de 10 formas, pero sólo tres de ellas se asocian con enfermedad hepática: las glucogenosis de tipo I, III y IV. Los otros tipos pueden producir hepatomegalia o alteraciones microscópicas de la histología hepática, pero sin una enfermedad clínicamente significativa. El metabolismo del glucógeno está presente en muchos tejidos, pero los que tienen mayor importancia clínica son el tejido hepático y el muscular. El glucógeno es un compuesto de almacenamiento de glucosa que

el organismo utiliza como reserva de energía. Está formado por largas cadenas de glucosa dispuestas en uniones lineales α -1,4; del 8% al 10% de las moléculas de glucosa están unidas mediante enlaces α -1,6 para formar cadenas ramificadas, lo que permite su almacenamiento más compacto y eficiente y minimiza su impacto sobre la osmolaridad intracelular. Los sustratos para la síntesis de glucógeno, la glucosa-6-fosfato (G6P) y la glucosa-1-fosfato (G1P) proceden de varias vías, entre ellas los ciclos metabólicos de la fructosa y la galactosa, así como de la gluconeogénesis y la glucógenolisis (35).

La glucogenosis tipo 1 es el error innato más frecuente del metabolismo del glucógeno. Existen dos formas: las glucogenosis tipo 1a y 1b. La glucogenosis tipo 1a se debe a la deficiencia de la enzima glucosa-6-fosfatasa (G6P), lo que provoca una incapacidad para la obtención de glucosa por gluconeogénesis y glucógenolisis. Esta incapacidad produce hipoglicemia a los 90 a 180 minutos de la última ingestión de glucosa, debiendo entonces el organismo recurrir al metabolismo del lactato, de los ácidos grasos y a las vías glucolíticas como fuente de energía, lo que puede llevar a la acidosis láctica, la hipertrigliceridemia y la hipercolesterolemia. Esta enfermedad se puede manifestar desde el primer año de vida por hipoglicemia sintomática, hepatomegalia, nefromegalia, facie redondeada e hipotrofia muscular. Se puede desarrollar también insuficiencia renal, producto de la hiperuricemia que ocurre como consecuencia del aumento del metabolismo de las purinas; otros hallazgos son adenomas hepáticos con potencial maligno, anemia y riesgo de hemorragia a causa de trastornos de la función plaquetaria. Es frecuente que los pacientes presenten diarrea de tipo osmótico, debida a la malabsorción intestinal de glucosa, y osteoporosis por la acidemia crónica. El diagnóstico se realiza mediante la valoración de la G6P en el hígado y la demostración de los agregados de glucógeno en el citoplasma de los hepatocitos; en aquellos pacientes con hipoglicemias y acidosis láctica no tan graves se puede efectuar una prueba con glucagón en ayunas que consiste en determinar el incremento de los niveles de lactato superiores

a 2,4mmol/l junto con una respuesta normal de la glicemia. El tratamiento se basa en la alimentación frecuente durante el día y la nutrición enteral continua en la noche, para evitar la hipoglicemia y la acidosis láctica. Los preparados utilizados deben incluir un 60% de hidratos de carbono que no contengan galactosa o fructosa (36).

La glucogenosis tipo 1b se produce por deficiencia de la actividad de la enzima translocasa microsomal, que cumple la función de transportar la G6P dentro del retículo endoplásmico (RE). Su presentación clínica es similar a la de tipo 1a pero habitualmente es más grave. Se caracteriza por la aparición de neutropenia e infecciones recurrentes debidas a una alteración de la función leucocitaria. Su diagnóstico y tratamiento son similares a los del tipo 1a (36).

La glucogenosis tipo III o enfermedad de Cori se debe a la deficiencia de la enzima desramificante amilo- α -1,6 glucosidasa (EDG) y conduce a la acumulación de unidades de dextrina límite que bloquean la posterior liberación de glucosa por la fosforilasa. Como la deficiencia de EDG no interfiere con el metabolismo de la G6P, los pacientes con glucogenosis tipo III siguen teniendo un mecanismo eficaz para la gluconeogénesis, por lo que su evolución clínica es menos grave que la de los pacientes con glucogenosis tipo I. Clínicamente predomina la esplenomegalia sobre la hepatomegalia. Alrededor del 80% de los pacientes presenta hipoglicemia en ayunas con elevación del colesterol y los triglicéridos, pero más leves que en el tipo 1a y prácticamente no se observa hiperuricemia. Puede haber cetosis pero no hay aumento de ácido láctico. En general, pueden evolucionar a una miopatía que puede causar discapacidad en los adultos. El diagnóstico se realiza con la demostración de la deficiencia enzimática en los hematíes y la presencia de oligosacáridos ricos en glucosa en orina. Estas alteraciones pueden ser variables en su intensidad por lo que se recomienda la investigación de la actividad enzimática en otros tejidos. El tratamiento es similar al del tipo 1 pero como la hipoglicemia es leve, casi no es necesaria la alimentación nocturna (37).

La glucogenosis tipo IV o enfermedad de Andersen es un síndrome muy raro. Se debe al déficit de la enzima ramificante amilo α -1,4-1,6-glucosil transferasa. En estos pacientes la hipoglicemia es rara y la respuesta a la sobrecarga de fructosa y galactosa es normal. En el período de la lactancia los niños afectados presentan hepatoesplenomegalia progresiva, hipotonía muy intensa y atrofia muscular con desarrollo de cirrosis hepática en relación con la acumulación de glucógeno, cuya estructura molecular es anormal, sin ramificaciones. Si la enfermedad no es tratada los pacientes fallecen en los primeros 2 a 3 años de vida. El diagnóstico se realiza demostrando la acumulación en los tejidos de glucógeno con estructura anómala, así como la deficiencia enzimática en fibroblastos y hematíes. El trasplante hepático se ha utilizado con éxito, debido a que corrige el error metabólico y permite un crecimiento normal (35).

Referencias

1. Maillette de Buy Wenniger L, Beuers U. Bile salts and cholestasis. *Dig Liver Dis* 2010; 42: 409 - 18.
2. Hofmann AF, Eckmann L. How bile acids confer gut mucosal protection against bacteria. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103: 4333 – 4.
3. Begley M, Gahan CG, Hill C. The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol Rev* 2005; 29: 625–51.
4. Hofmann AF, Hagey LR. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology and therapeutics. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 2461–83.
5. Hylemon PB, Zhou H, Pandak WM, et al. Bile acids as regulatory molecules. *J Lipid Res* 2009; 50: 1509–20.
6. Zollner G, Trauner M. Nuclear receptors as therapeutic targets in cholestatic liver diseases. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 7–27.

7. Hofmann AF, Roda A. Physicochemical properties of bile acids and their relationship to biological properties: an overview of the problem. *J Lipid Res* 1984; 25: 1477 – 89.
8. Monte MJ, Marin JJ, Antelo A, Vazquez-Tato J. Bile acids: chemistry, physiology, and pathophysiology. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 804–16.
9. Roda A, Grigolo B, Minutello A, et al. Physicochemical and biological properties of natural and synthetic C-22 and C-23 hydroxylated bile acids. *J Lipid Res* 1990, 31:289–98.
10. Hofmann AF, Mysels KJ. Bile acid solubility and precipitation in vitro and in vivo: the role of conjugation, pH, and Ca²⁺ ions. *J Lipid Res* 1992; 33:617– 26.
11. Perez MJ, Briz O. Bile-acid-induced cell injury and protection. *World J Gastroenterol* 2009; 15:1677–89.
12. Dawson P. Bile Secretion and the Enterohepatic Circulation. En Feldman: Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. Feldman M, Lawrence F, Lawrence J, editors. Saunders-Elsevier 2006; 1370-72.
13. Claudel T, Zollner G, Wagner M, Trauner M. Role of nuclear receptors for bile acid metabolism, bile secretion, cholestasis, and gallstone disease. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 867-78.
14. Meier PJ, Stieger B. Bile salt transporters. *Annu Rev Physiol* 64: 635–61, 2002.
15. Strautnieks SS, Bull LN, Knisely AS, et al. A gene encoding a liver-specific ABC transporter is mutated in progressive familial intrahepatic cholestasis. *Nat Genet* 1998; 20: 233–38.
16. Claudel T, Zollner G, Wagner M, Trauner M. Role of nuclear receptors for bile acid metabolism, bile secretion, cholestasis, and gallstone disease. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 867-78.
17. Chari RS, Schutz SM, Haebig JE, et al. Adenosine nucleotides in bile. *Am J Physiol* 1996; 270: 246–52.
18. Chen B, Dong JQ, Chen YJ, et al. Two-dimensional electrophoresis for comparative proteomic analysis of human bile. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 6:402–6, 2007.
19. Hofmann AF. The enterohepatic circulation of bile acids in mammals: form and functions. *Front Biosci* 2009;14: 2584–98.
20. Hruz P, Zimmermann C, Gutmann H, et al. Adaptive regulation of the ileal apical sodium dependent bile acid transporter (ASBT) in patients with obstructive cholestasis. *Gut* 2006; 55: 395–402.
21. Ballatori N, Fang F, Christian WV, et al. Ostalpha-Ostbeta is required for bile acid and conjugated steroid disposition in the intestine, kidney, and liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: 179–86.
22. Ballatori N, Li N, Fang F, Boyer JL, et al. OSTalpha-OSTbeta: a key membrane transporter of bile acids and conjugated steroids. *Front Biosci* 2009; 14: 2829–44.
23. Bove KE, Heubi JE, Balistreri WF, Setchell KD. Bile acid synthetic defects and liver disease: a comprehensive review. *Pediatr Dev Pathol* 2004; 7: 315-34.
24. Stieger B, Zhang J, O'Neill B, Sjövall J, Meier PJ. Differential interaction of bile acids from patients with inborn errors of bile acid synthesis with hepatocellular bile acid transporters. *Eur J Biochem* 1997; 244: 39-44.
25. Fischler B, Bodin K, Stjernman H, Olin M, Hansson M, Sjövall J, Björkhem I. Cholestatic liver disease in adults may be due to an inherited defect in bile acid biosynthesis. *J Intern Med* 2007; 262: 254-62.

26. Bove KE, Daugerthy CC, Tyson W, et al. Bile acid synthetic defects and liver disease. *Pediatr Dev Pathol* 2000; 3:1.
27. Van Mil SW, van der Woerd WL, van der Brugge G, Sturm E, Jansen PL, Bull LN, van den Berg IE, Berger R, Houwen RH, Klomp LW. Benign recurrent intrahepatic cholestasis type 2 is caused by mutations in ABCB11. *Gastroenterology* 2004; 127: 379-84.
28. Eloranta ML, Häkli T, Hiltunen M, Helisalmi S, Punnonen K, He inonen S. Association of single nucleotide polymorphisms of the bile salt export pump gene with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Scand J Gastroenterol* 38: 648-52, 2003. Keitel V, Vogt C, Häussinger D, Kubitz R. Combined mutations of canalicular transporter proteins cause severe intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Gastroenterology* 2006; 131: 624-29.
29. Goodman Z, Makhlaouf H. Hepatic histopathology. En Schiff 's Diseases of the Liver. Schiff E, Sorrell, Maddrey W, editores. Lippincott Williams and Wilkins 2007; 317-470.
30. Metabolic disorders and storage diseases. En: *Hepatology Principles and Practice*. Kuntz E, Kuntz H, editores Springer. 2006; 579-638.
31. Gross J. Metabolic Liver Diseases. En: *Practical Gastroenterology and Hepatology: Liver and Biliary Disease*. Talley N, Lindor K, Vargas H, editors. 2010; 216-23.
32. Crane S. Hepatic Manifestations of Systemic Diseases. En *Practical Gastroenterology and Hepatology: Liver and Biliary Disease*. Talley N, Lindor K, Vargas H, editores. 2010 ; 288-96.
33. Arancibia J. Sobrecarga de hierro y enfermedad hepática. Aspectos clínicos y terapéuticos. *Gastroenterol Latinoam* 2011; 22; 152-55.
34. Leonis M, Balistreri W. Other Inherited Metabolic Disorders of the Liver. En Feldman: Slesinger & Fordtran's *Gastrointestinal and Liver Disease*. Feldman M, Lawrence F, Lawrence J, editores. Saunders-Elsevier. 2006; 1613-37.
35. Sueiro J, Ceide J, Molares A. Guía informativa para la glucogenosis tipo 1 (Enfermedad de von Gierke). Asociación Española de Enfermos de Glucogenosis (AEEG). Fecha de actualización: enero 2010. Disponible en [http:// www.glucogenosis.org](http://www.glucogenosis.org) (consultado el 14 de noviembre 2011).
36. Molares A. Guía informativa para la glucogenosis tipo III (Enfermedad de Cori-Forbes). Asociación Española de Enfermos de Glucogenosis (AEEG). Fecha de actualización: enero 2010. Disponible en [http:// www.glucogenosis.org](http://www.glucogenosis.org) (consultado el 14 de noviembre 2011).

Función pancreática exocrina

Zoltán Berger

Los antiguos griegos buscaron una respuesta para la pregunta ¿Cómo nutren los alimentos al cuerpo humano y se convierten en sus componentes? Pensaban que el proceso de digestión era similar en cierto sentido a la cocción, que probablemente ocurría en el estómago y luego se repetía en el intestino. El páncreas fue visto en esa época como un amortiguador, un protector de los grandes vasos sanguíneos abdominales y esta opinión se mantuvo durante siglos. Expresiones como “fermentación” y “fermentos” aparecieron aproximadamente 1.000 años más tarde. La fisiología pancreática, en el sentido moderno, empezó en el siglo XIX y su figura más determinante fue Claude Bernard, quien reconoció que “la digestión gástrica era sólo una etapa preparatoria” y describió la importancia del páncreas en la digestión de las tres principales clases de alimentos. Él mismo sugirió que existiría alguna relación entre el páncreas, el “milieu interieur” y la regulación de nivel de glucosa en la sangre. El famoso estudio de Bayliss y Starling en 1902 llevó al descubrimiento de la secretina y dio nacimiento a la palabra “hormona” y a una nueva rama de ciencia médica, la endocrinología. La descripción de las células claras en los islotes del páncreas por el joven estudiante de medicina, Langerhans, y posteriormente las investigaciones de Von Mering y Minkowski relacionaron definitivamente al páncreas con la diabetes. Fanconi y sus colaboradores describieron por primera vez en 1936 la fibrosis quística como una entidad nosológica y describieron en detalle los síntomas de la insuficiencia pancreática exocrina. En el siglo XX se acumuló nueva infor-

mación acerca de la regulación y de los mecanismos celulares y subcelulares de la secreción pancreática exocrina y de las enfermedades de este órgano de acceso difícil en la práctica clínica cotidiana (1).

Estructura del páncreas

Como notaron los antiguos griegos, el páncreas es un órgano retroperitoneal que se encuentra entre los grandes vasos sanguíneos abdominales. Su parénquima está compuesto en su mayoría por células acinares de forma piramidal que se organizan en acinos. Los productos de la secreción exocrina sintetizados por estas células llegan por su polo apical al lumen acinar, que es drenado por delgados conductos revestidos por una monocapa de células epiteliales cúbicas o cilíndricas bajas. Los acinos y su correspondiente dúctulo, forman la unidad funcional del páncreas exocrino. La secreción pancreática es la suma de la función secretora de estas unidades que va convergiendo hacia conductos de diámetros crecientes. Finalmente, la secreción es transportada al lumen duodenal a través del conducto principal, el conducto de Wirsung, atravesando la papila mayor llamada también la ampolla de Vater. Una proporción menor de la secreción es drenada por el conducto de Santorini a través de la papila duodenal menor. Esta última se convierte en el drenaje principal en los individuos con páncreas divisum, una anomalía congénita en que los esbozos dorsal y ventral del órgano no se fusionan en las últimas fases de su desarrollo embrionario. Además de la secreción

exocrina, el páncreas incluye también un órgano endocrino disperso en el parénquima exocrino: los islotes de Langerhans, cuya principal hormona secretada, la insulina, ejerce un papel importante en la regulación del metabolismo de la glucosa.

Función del páncreas exocrino - la célula acinar y la producción de enzimas

Los alimentos ingeridos sufren las primeras modificaciones enzimáticas en el estómago. Además de la mezcla mecánica, en el estómago se inicia principalmente la digestión de las proteínas; la lipasa gástrica tiene una importancia fisiológica limitada. Al llegar al lumen duodenal, los alimentos se mezclan con el líquido duodenal que contiene los enzimas pancreáticos que digieren sus componentes, transformándolos en moléculas más simples que, en último término, son absorbidas por el intestino delgado. Estos enzimas son sintetizados por las células acinares del páncreas y tienen actividad proteolítica, amilolítica y lipolítica además una celulasa y ribonucleasas. La célula acinar sintetiza gran cantidad de proteínas; Palade y su grupo obtuvieron el premio Nobel al estudiar a nivel ultraestructural los mecanismos involucrados en esta síntesis (2). Los enzimas se almacenan en los gránulos de zimógeno que dentro de la célula están rodeados por una membrana que los mantiene separados del citoplasma y, particularmente, de los lisosomas. Las proteasas son producidas en forma inactiva y son almacenadas en los gránulos de zimógeno junto con moléculas con actividad antiproteasa, que protegen a la célula pancreática de su activación y de la consiguiente autodigestión, tal como se puede observar en el caso de la pancreatitis aguda (Figura 1). Finalmente, los enzimas son secretados por exocitosis por el polo apical de la célula, llegando al lumen acinar central. De las proteínas sin actividad enzimática sintetizadas por las células acinares, la litostatina (3) y la proteína asociada con la pancreatitis (PAP) (4, 5) son las que tienen mayor importancia (Tabla 1).

Las células ductales

La célula acinar secreta pequeños volúmenes de líquido y por consiguiente, la principal función de las células ductales es la secreción de agua y electrolitos, la cual es indispensable para permitir el transporte de las enzimas hacia los conductos mayores y, finalmente, al duodeno (Figura 1); dicha secreción tiene además un pH levemente alcalino, que es óptimo para la función enzimática. El producto final de todo este proceso es el jugo pancreático, cuya osmolaridad es similar a la del plasma. De los cationes presentes en el jugo pancreático, el sodio está en una concentración algo mayor que la del plasma, en tanto que la de potasio es similar a la del compartimiento plasmático. El jugo pancreático está generalmente saturado con calcio, el que se mantiene sin precipitar gracias a diferentes compuestos estabilizadores de los que probablemente, uno de los más importantes es la proteína de cálculo, PSP (pancreatic stone protein) (3). La principal diferencia con el plasma está en su composición aniónica, ya que la concentración de bicarbonato (HCO_3^-) en la secreción pancreática estimulada, postprandial, es la más elevada de todos los fluidos del cuerpo humano. La concentración del Cl^- disminuye inversamente con la secreción de bicarbonato siendo la suma de HCO_3^- y Cl^- prácticamente igual a la concentración del Na^+ . En el proceso que llevó a entender el mecanismo de secreción de las células ductales, el primer paso fue el descubrimiento de la presencia en su membrana plasmática de un canal de cloro, la proteína CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) (6,7), cuya función está intensamente alterada en la fibrosis quística. Este canal permite la salida del cloro desde el citoplasma de la célula hacia el lumen; posteriormente se activa el intercambiador cloro/bicarbonato que permite la salida de bicarbonato desde el interior de la célula hacia el lumen. En años recientes se logró demostrar que el canal CFTR también es permeable al HCO_3^- y que esta permeabilidad se incrementa con el aumento de la concentración extracelular de HCO_3^- . Cuando la concentración de

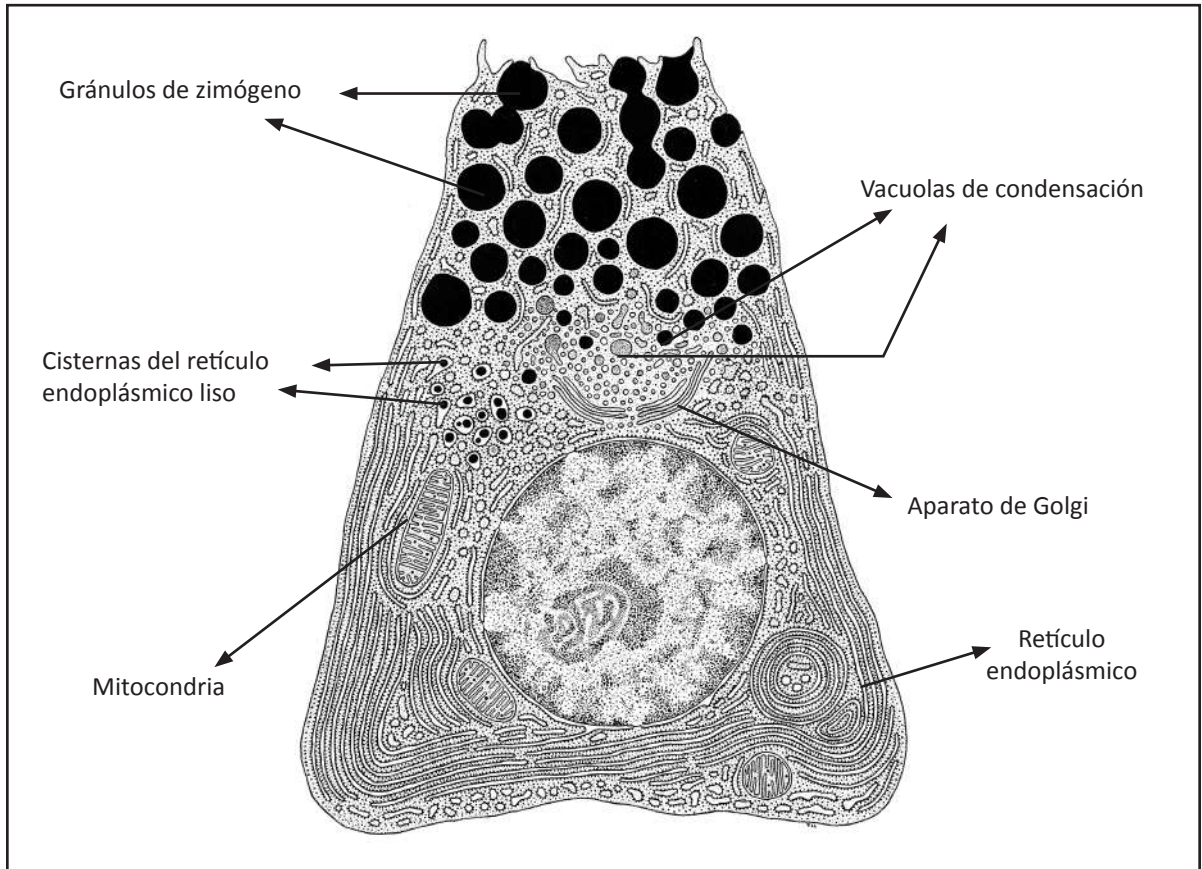


Figura 1. Célula acinar. Es una célula con estructura polarizada diferenciada para la síntesis de las enzimas.

este anión alcanza valores de aproximadamente 80 mM, asociados con una disminución importante de la concentración intracelular del cloro, el canal CFTR se vuelve prácticamente selectivo para el transporte de HCO_3^- desde el citoplasma hacia el lumen (8), lo que permite que se alcance la elevada concentración de HCO_3^- en el jugo pancreático (Figura 3).

Regulación de la secreción pancreática

La regulación de la secreción pancreática es un proceso complejo que depende de factores humorales y de reflejos mediados por vías nerviosas y, en último término, de la interacción entre estos dos gru-

pos de factores; es decir, la secreción pancreática está bajo control neurohumoral. La primera fase de este proceso es llamada cefálica, es inducida por la visión del alimento y el estímulo hacia el páncreas es transmitido por fibras nerviosas. La segunda etapa es denominada fase gástrica, ya que la distensión del estómago activa reflejos locales y libera hormonas gastrointestinales. La fase dominante, la más importante, es la fase duodenal, que es responsable la mayor parte de la secreción pancreática (Tabla 2). Esta fase fue considerada por largo tiempo como el resultado de reflejos locales; Iván Pavlov, un fisiólogo ruso fue el creador y principal representante de la teoría del “nervismo” en el siglo pasado. Con el

- **ENZIMAS**
 - **Amilolíticas**
 - α -amilasa
 - **Lipolíticas**
 - lipasa
 - colipasa
 - carboxilesterasa
 - fosfolipasa A2
 - **Proteolíticas**
 - endopeptidasas:
 - tripsinogéno
 - quimotripsinogéno
 - proelastasa
 - exopeptidasas:
 - carboxipeptidasas A y B
 - **Nucleicolíticas**
 - ARN-asa
 - ADN-asa
- **PROTEÍNAS NO ENZIMATICAS:**
 - Inhibidor de tripsina - autoprotección
 - Litostatina - ¿Previene la formación de cálculos?
 - PAP - Proteína asociada con pancreatitis ¿Bacteriostática?

Tabla 1. Proteínas producidas por la célula acinar.

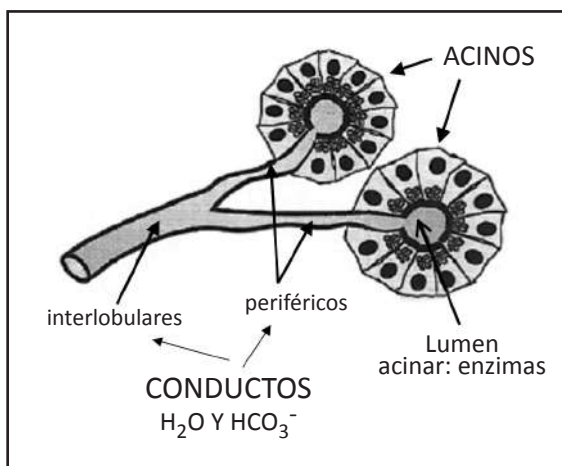


Figura 2. Unidad funcional del páncreas exocrino.

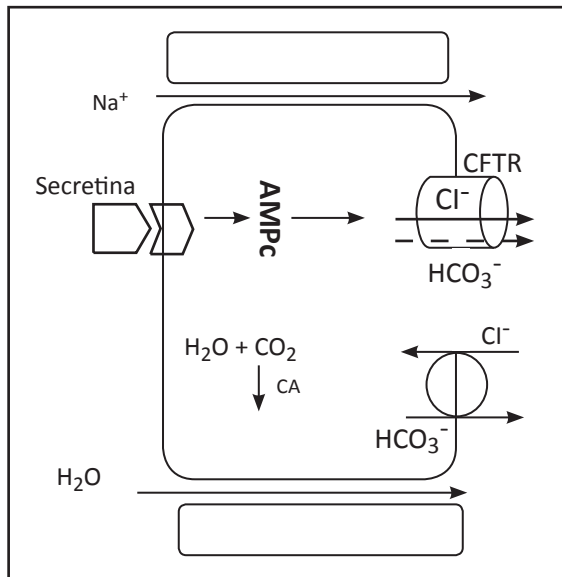


Figura 3. Procesos básicos en la secreción de bicarbonato por la célula ductal. La secretina, a través de activación de su receptor, aumenta el nivel de AMPc, que produce la apertura del canal CFTR, permitiendo la salida de cloro hacia el lumen apical de las células acinarias. El cloro vuelve al interior de la célula en un proceso mediado por un cambiador de aniones, dando salida al bicarbonato hacia el lumen apical. Con el aumento de la concentración luminal del bicarbonato por encima de 80 mM y la disminución paralela de la concentración intracelular del cloro (5 mM), el CFTR transporta cantidades crecientes de bicarbonato, funcionando finalmente como un canal selectivo de bicarbonato. CA: anhidrasa carbónica; CFTR: (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator); AMPc: adenosín monofosfato cíclico.

descubrimiento de secretina y de la colecistoquinina (CCK) el énfasis cambió y durante largo tiempo estas dos hormonas gastrointestinales fueron consideradas los estimuladores casi exclusivos de la secreción pancreática. Más adelante, se agregó la descripción en ratas del mecanismo de feedback duodeno-pancreático, en el que la liberación de CCK por la mucosa duodenal fue considerada el elemento clave (9). En la membrana basolateral de las células acinarias se encuentran receptores para diversas moléculas que modulan las funciones de dichas células. La activación del receptor muscarínico para la acetilcolina, la CCK y la bombesina produce alzas y oscilaciones de los niveles de calcio libre intracelular, que consti-

Fase	Estímulo	Vía reguladora	% Secreción máxima
Cefálica	Vista	Vías vagales	10 - 25 %
	Olfato		
	Sabor		
	Masticación		
Gástrica	Distensión	Vagal colinérgica	10 - 20%
	¿Gastrina?		
Intestinal	Aminoácidos	CCK	55 - 80%
	Acidos grasos	Reflejos	
	H ⁺	Secretina	

Tabla 2. Fases de la estimulación de secreción pancreática.

tuyen el proceso clave en la estimulación de la secreción; estos receptores están ligados a las proteínas G. De los numerosos mediadores intracelulares involucrados en esta etapa, los más conocidos son el IP3 (trifosfato de inositol) y el DAG (diacilglicerol). El resultado final es la exocitosis de los enzimas almacenados en los gránulos de zimógeno, que fusionan la membrana que los rodea con la membrana apical y vacían su contenido al lumen acinar (Figura 4). Existen también receptores para la secretina y el VIP (vasoactive intestinal peptide, péptido intestinal vasoactivo), que activan la adenilciclase y actúan a través del aumento del adenosín monofosfato (AMP) cíclico. Ninguno de ellos es capaz de estimular por sí sólo la secreción de las enzimas. Por el contrario, estos receptores son fundamentales para la estimulación de las células ductales. El AMPc induce la apertura del canal CFTR, permitiendo la salida de cloro hacia el lumen y desencadena el proceso de secreción apical de bicarbonato; el agua, a su vez, sigue en forma pasiva a los electrolitos por la vía paracelular.

Estudios experimentales, principalmente en ratas, demostraron que gracias a la presencia de receptores para CCK en la membrana basolateral de las células acinares, éstas responden a dicha hormona secretando enzimas en forma dosis-dependiente. Sin embargo, no se logró demostrar la existencia de un receptor funcional para la CCK en la membrana de las células acinares humanas, lo que llevó a cuestionar el mecanismo de acción de esta hormona en el páncreas de los seres humanos (10). Numerosos estudios experimentales demostraron el antagonismo dosis-dependiente entre la CCK y la atropina y otros bloqueadores de la conducción nerviosa, incluso en modelos animales. Se estableció que, en dosis bajas, la CCK actúa por la vía de reflejos, con receptores en las fibras nerviosas colinérgicas, y produce finalmente la liberación de acetilcolina (ACh). En condiciones fisiológicas esta ACh sería responsable del efecto estimulador final de la CCK. Es decir, aunque el alimento en el lumen duodenal estimula la liberación de CCK, esta hormona no actúa directamente sobre

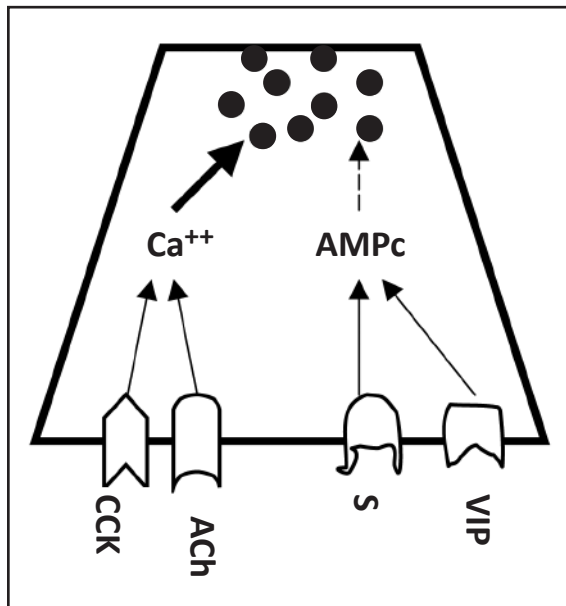


Figura 4. Esquema de la estimulación de la exocitosis de las enzimas de la célula acinar. La CCK a través de su receptor tipo 1 y la ACh a través de un receptor muscarínico aumentan el nivel de calcio intracelular y estimulan la exocitosis de enzimas hacia el lumen acinar. S y VIP aumentan el nivel de AMP cíclico, que potencia el efecto de los anteriores. CCK: colecistoquinina. ACh: acetilcolina. S: secretina. VIP: péptido vasoactivo intestinal.

las células acinares, sino que induce la liberación de Ach, que es el efector final a nivel de la membrana celular. En estos estudios experimentales sólo dosis elevadas de CCK lograron superar el efecto de la atropina y actuar, probablemente en forma directa, sobre las células acinares. Estas observaciones fueron confirmadas también mediante la administración endovenosa de diferentes dosis de CCK, lo que demostró que la integridad de las fibras nerviosas aferentes es necesaria para que la CCK estimule la secreción pancreática (11).

Sin embargo, en 2005 se logró detectar la presencia del receptor CCK 1 en el páncreas, sin poder precisar el tipo de célula en el que está presente (12). Posteriormente, en 2008, estudios publicados por Petersen y cols. demostraron por primera vez la existencia de receptores funcionalmente activos en células acinares humanas, logrando inducir oscilaciones y

alzas del calcio intracelular, observar la ocurrencia de exocitosis y detectar secreción enzimática, aún en presencia de atropina y tetrodotoxina (13). Estos cambios pudieron ser observados incluso pese a que se habían bloqueado todos los posibles elementos nerviosos remanentes en la preparación. Sin embargo, este hallazgo no ha sido confirmado hasta ahora por otro grupo de investigadores.

Lo que sí es posible afirmar sin duda alguna es que la CCK es un actor clave en la estimulación postprandial de la secreción pancreática. La presencia de alimentos no digeridos en el lumen duodenal libera CCK desde la mucosa y su acción requiere la integridad de las fibras nerviosas, particularmente de las fibras aferentes. Además de liberar la Ach de las fibras colinérgicas, la CCK muy probablemente actúa también como una hormona, llegando a las células acinares del páncreas a través de la circulación sanguínea (11). A la luz de los resultados de Petersen y cols., antes mencionados, este último mecanismo, que involucra la estimulación directa por la CCK, ha recobrado fuerza nuevamente.

Es posible diferenciar dos tipos de receptores de CCK: el tipo 1, previamente llamado tipo A (Alimentary) y el tipo 2, anteriormente llamado B (Brain). El receptor 1 está presente en diferentes sitios del tracto digestivo. En la fase postprandial el efecto de la CCK, aparte de la estimulación de la secreción pancreática, incluye también la contracción de la vesícula biliar y la relajación del esfínter de Oddi, además de inducir el retardo del vaciamiento gástrico. El conjunto de estos efectos permite establecer condiciones óptimas para la digestión del contenido duodenal.

El papel del sistema nervioso simpático es más limitado, ya que no se ha descrito la presencia de receptores específicos en las células acinares ni en la membrana de las células ductales. Los estímulos adrenérgicos y dopaminérgicos actúan a través de vías colinérgicas y probablemente tienen receptores pre y postganglionares; la estimulación α -adrenérgica inhibe la secreción pancreática mediante receptores preganglionares, mientras que los estímulos β -agonistas aumentan la secreción actuando sobre receptores en las fibras postganglionares. La dopa-

mina también ejerce un efecto estimulador a través de receptores preganglionares (14). En resumen, los agonistas simpáticos actúan sobre el páncreas modulando su función a través de vías colinérgicas.

Cuando el alimento ya digerido en el intestino avanza hacia segmentos más distales se liberan otros mediadores, como el PYY (polipéptido YY) y el GLP (glucagon-like peptide) cuyo efecto es inhibitorio, lo cual contribuye a que la secreción pancreática vuelva a su nivel interprandial (15, 16). El descubrimiento de estos factores y posteriormente la demostración de que la presencia de alimentos en el yeyuno distal no estimula la secreción pancreática (17), permitieron el uso de la nutrición enteral en el tratamiento de la pancreatitis aguda; esta innovación representó un cambio radical en su manejo nutricional.

Adaptación a la dieta

La idea de que la secreción de las diferentes enzimas pancreáticas depende de la composición de los alimentos resultó siempre atractiva. En una serie de experimentos se perfundió el duodeno de ratas con hidratos de carbono o proteína. Posteriormente, se inyectaron en la arteria celíaca de otra rata extractos de la mucosa duodenal expuesta a estos alimentos específicos, observándose una estimulación selectiva de la síntesis del enzima correspondiente (18). Aunque nadie ha logrado reproducir estos resultados, Tseng y cols. (19) observaron tendencias similares, con cierta selectividad, para los diferentes enzimas pancreáticos. La CCK y sus diferentes formas moleculares estimulan preferentemente la secreción de quimotripsina en comparación con la amilasa y la lipasa. La instilación intraduodenal de harina cruda de soja, que contiene un inhibidor de la tripsina (SBTI, Soybean trypsin inhibitor) estimuló exclusivamente la secreción de las proteasas pancreáticas (20). El contenido enzimático del páncreas se adapta rápidamente a los cambios en la composición de la dieta: el contenido de la enzima correspondiente al componente dominante de la dieta aumenta a expensas de los otros dos grupos

principales. Este resultado fue demostrado con los tres grupos principales de nutrientes, observándose un cambio significativo en 24-36 horas tanto en la secreción pancreática en seres humanos como en ratas (21- 24). El mediador de estos cambios es incierto; la importancia de la CCK parece casi obvia en el caso de las proteínas pero no se ha podido identificar el o los responsables para los dos otros grupos de nutrientes. Se consideró que la insulina tendría alguna importancia en el aumento de la síntesis de la amilasa en respuesta al mayor consumo de hidratos de carbono.

Existe indudablemente una interrelación entre el páncreas exocrino y el endocrino. Las células acinares periinsulares y teleinsulares son diferentes en apariencia; las primeras tienen gránulos de zimógeno de mayor tamaño, pero no está demostrado que tengan un mayor contenido de amilasa. Probablemente esta diferencia es una consecuencia de la microcirculación: la sangre de las arteriolas llega primero a los islotes de Langerhans y luego, ya con una concentración muy elevada de insulina, entra en contacto con las células acinares periinsulares. La importancia de este hallazgo es evidente cuando se produce daño del páncreas ya que los islotes y los acinos periinsulares mantienen su integridad por más tiempo. En la pancreatitis aguda se observan con frecuencia alteraciones de la glicemia, a tal punto que sus alzas importantes han sido consideradas un factor pronóstico ya que son un índice de la gravedad del cuadro. El grado extremo de este fenómeno es el coma diabético que puede ser la primera manifestación de una pancreatitis aguda grave, generalmente con necrosis y microabscesos y con mortalidad elevada. Por otra parte, también se pueden producir episodios de hipoglicemia inducidos por la liberación de la insulina almacenada en las células endocrinas necróticas. La diabetes mellitus es una consecuencia tardía de la pancreatitis crónica de cualquier origen y se debe a la destrucción de los islotes de Langerhans, generalmente durante la fase avanzada de la enfermedad. Al comparar la diabetes mellitus tipo II con aquella asociada con la pancreatitis crónica, existen diferencias fundamentales en-

tre ambas que determinan su forma de tratamiento (25). En esta última se produce una disminución paralela de la producción de insulina y de su contraparte, el glucagón, sin que exista una disminución de la sensibilidad a la insulina de las células de la periferia; la ingesta de alimentos puede variar dependiendo de las alteraciones producidas por la enfermedad de base y la absorción de glucosa a partir de los hidratos de carbono puede sufrir modificaciones en relación con la actividad de la enfermedad y el tratamiento con enzimas pancreáticos. Todos estos factores llevan a un riesgo alto de hipoglicemia en la diabetes pancreática, que requiere particular atención en la elección de la preparación y la dosis de insulina usadas. Los hipoglicemiantes orales tienen un papel menos que limitado ya que cuando en la pancreatitis crónica se manifiesta la diabetes, la reserva estimable de insulina generalmente ya es mínima.

El páncreas exocrino en la diabetes

El páncreas endocrino se encuentra disperso en el páncreas exocrino. Aunque la dependencia de los islotes respecto del parénquima exocrino es lógica, si se tiene en cuenta la presencia dominante de este último, el daño del páncreas endocrino puede tener repercusiones en el tejido exocrino. En fragmentos aislados de tejido pancreático, la insulina no modifica por sí sola la secreción enzimática, pero la hormona potencia el efecto estimulante de la CCK sobre la secreción de amilasa (26). Además, el efecto trófico de la CCK en relación con la regeneración del páncreas después de una pancreatitis aguda es también más intenso en presencia de insulina (27). Por el contrario, la producción de amilasa disminuye en la diabetes experimental (26). En la patología humana se reproduce el mismo proceso, ya que varios grupos de investigadores observaron disminuciones de la producción de enzimas pancreáticos en los diabéticos (28, 29). Algunos de estos pacientes presentan también alteraciones morfológicas leves de los conductos pancreáticos mayores, detectables

por resonancia magnética o por pancreatografía endoscópica (30), que son similares a las descritas en la pancreatitis crónica incipiente. Sin embargo, la necesidad de utilizar una terapia de sustitución enzimática en estos pacientes diabéticos es poco frecuente.

Insuficiencia pancreática exocrina

La mezcla deficiente de nutrientes y enzimas pancreáticos resulta en una digestión imperfecta, con presencia de moléculas parcialmente hidrolizadas en el lumen intestinal. De los tres grupos de enzimas pancreáticos, las lipolíticas son las que resultan afectadas más precozmente. La lipasa es muy sensible a las alteraciones del pH intraluminal y su destrucción es rápida; las lipasas lingual y gástrica no son capaces de compensar la deficiencia de la lipasa pancreática. Como consecuencia, la primera manifestación clínica de la presencia de una insuficiencia pancreática es la aparición de esteatorrea. La esteatorrea es la pérdida aumentada de una proporción variable de la grasa no digerida de los alimentos a través de las deposiciones. En circunstancias normales esta pérdida no excede el 5% del contenido total de grasa de la alimentación, en tanto que en la insuficiencia pancreática exocrina esta pérdida sobrepasa con frecuencia el 50%. La pérdida de grasa interfiere con la absorción de las vitaminas liposolubles, A, D, E y K, lo que acarrea todas las conocidas consecuencias. Los enzimas proteolíticos y amilolíticos resisten más a las variaciones del pH, su degradación en el lumen intestinal es más lenta y limitada y además, tanto la amilasa salival como las proteasas gástricas y las peptidasas intestinales proporcionan un cierto grado de compensación. Aún así, en los casos más extremos de insuficiencia pancreática exocrina se agrega una deficiente digestión de las proteínas y los hidratos de carbono: esto último dificulta el tratamiento de la diabetes asociada frecuentemente con la insuficiencia exocrina. La creatorrea, la pérdida excesiva de proteínas por las heces, se manifiesta raramente en forma clínica. Sin embargo, cuando esta pérdida ocurre, resulta con el

tiempo en la aparición de hipoproteinemia e hipoalbuminemia, acumulación de edema y desnutrición grave. La absorción de vitamina B₁₂ está también disminuida (31) porque la vitamina queda ligada a la proteína R y no se forma el complejo con el factor intrínseco, única forma que permite su absorción. Además, la presencia de nutrientes no digeridos en el intestino delgado distal deteriora aún más la situación ya que se inhibe la secreción pancreática, se acelera el vaciamiento gástrico e intestinal y la pululación bacteriana intestinal resulta facilitada (32). La causa más frecuente de insuficiencia pancreática es el daño extenso de las células acinares del páncreas y se produce en la pancreatitis crónica (PC) avanzada y en la fibrosis quística (FQ). El páncreas dispone de una inmensa reserva de enzimas por lo que en ambas condiciones el proceso de la digestión se mantiene adecuado durante largo tiempo. Según los estudios clásicos de DiMaggio y cols. la esteatorrea se manifiesta sólo cuando la secreción de lipasa disminuye por debajo de 10% de lo normal (33).

La pancreatitis crónica es la destrucción progresiva del parénquima pancreático, que puede evolucionar clínicamente en forma de brotes agudos de diferente gravedad, con dolor continuo o recurrente, pero sin reagudizaciones. Existen además formas asintomáticas o, por lo menos, silenciosas. Su causa exacta no es conocida y según la proposición del grupo Whitcomb (34), su etiología se clasifica según las siglas TIGAR-O. El factor tóxico más frecuente evidentemente es el consumo crónico de alcohol. Sin embargo, la enfermedad se desarrolla en una minoría de los alcohólicos. No se ha logrado identificar el o los factores que sensibilizan al páncreas frente al efecto del alcohol. La forma idiopática es diagnosticada cuando se descartaron razonablemente todas las causas conocidas. El origen genético está demostrado por la presencia de mutaciones del tripsinógeno catiónico o del inhibidor de tripsina (SPINK). El cuadro clínico evoluciona a través de episodios recurrentes de pancreatitis aguda y lleva a una calcificación extensa y precoz del órgano. Esta forma requiere un control médico regular debido al riesgo de desarrollo de cáncer después

de 20 o más años de evolución. El diagnóstico de la pancreatitis autoinmune ha estado aumentando en los últimos años; el proceso no siempre es crónico y puede mejorar mediante tratamientos con corticosteroides. La forma recurrente sigue un evolución similar a la de la pancreatitis hereditaria sin que se conozca hasta ahora ninguna mutación asociada. La última categoría es la pancreatitis obstructiva, en la que la solución de la obstrucción es beneficiosa al punto que en algunos casos puede permitir incluso la regeneración completa del parénquima. El diagnóstico de la enfermedad avanzada es generalmente fácil con métodos imagenológicos como la tomografía axial computarizada y la resonancia magnética. Sin embargo, el diagnóstico precoz sigue siendo muy difícil y con frecuencia sólo es posible empleando métodos funcionales de diagnóstico.

El tratamiento de la pancreatitis crónica depende de los síntomas clínicos; las alteraciones morfológicas, aún las más intensas, no representan indicaciones para realizar tratamientos invasivos, endoscópicos o quirúrgicos, si el paciente no tiene dolor o no sufre alguna complicación. La sustitución oral de las enzimas pancreáticas y el tratamiento adecuado de la diabetes son parte esencial del manejo de la PC avanzada.

La fibrosis quística provoca la destrucción del parénquima pancreático por un mecanismo distinto; esta enfermedad no es descrita generalmente como una forma de pancreatitis crónica aunque sus consecuencias nutricionales son parecidas. Las más de 1.600 mutaciones del gen que codifica el CFTR interfieren con su función y se clasifican en 5 grupos; los dos primeros se traducen en ausencia total de la función del CFTR y los 3 otros grupos inducen alteraciones de su función de diferente intensidad (35). Como consecuencia de estas alteraciones el volumen de la secreción pancreática disminuye dramáticamente, su viscosidad aumenta y los ductulos pequeños se obstruyen. Por detrás de la obstrucción se produce la destrucción de las células acinares con atrofia y fibrosis del parénquima pancreático. En los dos primeros grupos de mutaciones y también en la

mayoría de aquellas del grupo III se desarrolla siempre una insuficiencia pancreática exocrina, mientras que en los grupos IV y V la gravedad del compromiso pancreático depende de la intensidad del defecto de la función del CFTR y el daño pancreático es relativamente menor.

La síntesis y la secreción de los enzimas pancreáticos disminuye también en la enfermedad celíaca no tratada (36). Aunque las células pancreáticas mantienen su morfología y función normal, su estimulación resulta deficiente debido al daño que sufren las células enteroendocrinas duodenales y la falta de liberación de sus hormonas. Sin embargo, con el tratamiento dietético adecuado de la enfermedad de base (dieta sin gluten) la mucosa intestinal recupera rápidamente su integridad morfológica y funcional y la liberación postprandial de las hormonas estimuladoras también se normaliza sin otro tratamiento adicional. El problema clínico se manifiesta sólo en las primeras semanas después de establecer el diagnóstico e introducir la dieta sin gluten; en este corto periodo el tratamiento con enzimas pancreáticas orales acelera la recuperación del paciente.

Los cambios postquirúrgicos de la anatomía del tubo digestivo pueden producir también la imposibilidad de mezclar adecuadamente los nutrientes de la dieta con el jugo pancreático, como se observa en las gastro-yeyuno anastomosis, la resección gástrica tipo Billroth II, la pancreático-yeyunostomía (Puestow), el síndrome de dumping, etc. En estos casos, cuando el jugo pancreático llega al lumen intestinal, los alimentos ya se encuentran en un segmento más distal y las enzimas no alcanzan a actuar sobre ellos.

El método de elección para el tratamiento de la insuficiencia pancreática es la sustitución oral de los enzimas. La experiencia con los primeros extractos pancreáticos producidos fueron pobres ya que no se logró disminuir significativamente la esteatorrea. Posteriormente se consiguió aumentar la actividad de la lipasa y los resultados mejoraron de manera importante aunque sin lograr normalizar completamente el trastorno de la digestión; con todo, se pudo controlar más eficientemente las consecuencias clí-

nicas de la insuficiencia pancreática. Para proteger a las enzimas de la acidez gástrica, éstos fueron recubiertos con una capa resistente al ácido clorhídrico pero soluble en el entorno del lumen intestinal, lo que resultó en un mejor efecto. Posteriormente se agregó el uso de bloqueadores de los receptores H2 y posteriormente los inhibidores de la bomba de protones como el omeprazol, con lo que los resultados fueron aún mejores (37).

Estudios *in vitro* mostraron adicionalmente la rápida inactivación de la lipasa cuando estaba en una solución alcalina (pH:7,8), es decir, que existía otro factor negativo independiente del efecto del ácido gástrico (38). Esta inactivación fue bloqueada por el inhibidor SBTI de la tripsina presente en la soya (soybean trypsin inhibitor) comprobándose que en este caso la lipasa era inactivada por la tripsina. De esta forma fue posible lograr que la pérdida de actividad de la lipasa fuera menor y más lenta cuando ambas enzimas estaban en la misma solución pero en presencia de alimentos. En este caso, las proteínas de los alimentos "ocupan" gran parte de la capacidad proteolítica de la tripsina y protegen indirectamente a la lipasa. La inactivación de la lipasa es aún menor si en las tabletas de pancreatina los enzimas están presentes en forma de microgránulos, que proporcionalmente tienen gran superficie en relación con la función de la lipasa. De acuerdo con los resultados de estos estudios, la mejor forma farmacéutica para la sustitución oral de las enzimas pancreáticas sería incluyéndolas en microgránulos, con un alto contenido de lipasa asociado con una actividad relativamente baja de tripsina, en una proporción que se acerca a la encontrada en la secreción pancreática estimulada descargada al duodeno de los seres humanos normales.

Referencias

1. Modlin IM, Kidd M. The paradox of the pancreas from Wirsung to Whipple. Politzki Print Productions. Hannover, Germany. 2003.
2. Jamieson JD, Palade GE: Synthesis, intracellular transport and discharge of secretory proteins in stimulated pancreatic exocrine cells. *J Cell Biol* 1971; 50: 135–58.
3. De Caro A, Multigner L, Dagorn JC, Sarles H.: The human pancreatic stone protein. *Biochimie*. 1988; 70: 1209-14.
4. Keim V, Iovanna JL, Rohr G, Usadel K, Dagorn JC. Characterization of rat pancreatic secretory protein associated with pancreatitis. *Gastroenterology* 1991; 100: 775-82.
5. Iovanna JL, Frigerio J-M, Dusetti NJ, Ramare F, Raibaud P. Lithostatine, an inhibitor of CaCG3 crystal growth in pancreatic juice, induces bacterial aggregation. *Pancreas* 1993; 8: 597-601.
6. Gray MA, Greenwell JR, Argent BE. Secretin-regulated chloride channels on the apical plasma membrane of pancreatic duct cells. *Membr Biol* 1988; 105: 131-42.
7. Kim D, Steward MC: The role of CFTR in bicarbonate secretion by pancreatic duct and airway epithelia. *J Med Invest* 2009; 56 Suppl: 336-42.
8. Park HW, Nam JH, Kim JY, Namkung W, Yoon JS, Lee JS, Kim KS, Venglovecz V, Gray MA, Kim KH, Lee MG. Dynamic regulation of CFTR bicarbonate permeability by [Cl⁻]_i and its role in pancreatic bicarbonate secretion. *Gastroenterology* 2010; 139: 620–31.
9. Green GM, Lyman RL. Feedback regulation of pancreatic enzyme secretion as a mechanism for trypsin inhibitor-induced hypersecretion in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1972; 140: 6–12.
10. Ji B, Bi Y, Simeone D, Mortensen RM, Logsdon CD. Human pancreatic acinar cells lack functional responses to cholecystokinin and gastrin. *Gastroenterology* 2001; 121: 1380-90.
11. Wang BJ, Cui ZJ. How does cholecystokinin stimulate exocrine pancreatic secretion? From birds, rodents, to humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292: R666–R678.
12. Galindo J, Jones N, Powell GL, Hollingsworth SJ, Shankley N. Advanced qRT-PCR technology allows detection of the cholecystokinin 1 receptor (CCK1R) expression in human pancreas. *Pancreas* 2005; 31: 325–31.
13. Murphy JA, Criddle DN, Sherwood M, Chvanov M, Mukherjee R, McLaughlin E, Booth D, Gerasimenko JV, Raraty MG, Ghaneh P, Neoptolemos JP, Gerasimenko OV, Tepikin AV, Green GM, Reeve JR Jr, Petersen OH, Sutton R. Direct activation of cytosolic Ca²⁺-signaling and enzyme secretion by cholecystokinin in human pancreatic acinar cells. *Gastroenterology* 2008; 135: 632–41.
14. Berger, Z, Laugier, R. Dopamine, noradrenaline, and isoprenaline: secretory effects in vitro on mouse pancreas. *J Physiol* 1986; 376: 359–375.
15. Wen J, Phillips SF, Sarr MG, Kost LJ, Holst JJ. PYY and GLP-1 contribute to feedback inhibition from the canine ileum and colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1995; 269: G945–G952.
16. Keller J, Runzi M, Goebell H, Layer P. Duodenal and ileal nutrient deliveries regulate human intestinal motor and pancreatic responses to a meal. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1997; 272: G632–G637;
17. Kaushik N, Pietraszewski M, Hoist JJ, O’Keefe SJ. Enteral feeding without pancreatic stimulation. *Pancreas* 2005; 31: 353–59.

18. Felber, JP, Zermatten A, Dick J. Modulation, by food, of hormonal system regulating rat pancreatic secretion. *Lancet* 1974; 2: 185-88.
19. Tseng HC, Grendell JH, Rothman SS. Food, duodenal extracts, and enzyme secretion by the pancreas. *Am J Physiol.*1982; 243: G304-12.
20. Holm H, Reseland JE, Thorsen LI, Flatmark A, Hanssen AE. Raw soybeans stimulate human pancreatic proteinase secretion. *J. Nutr* 1992;122: 1407-16.
21. Dagorn JC, Michel R, Morisset J. Nonparallel courses of intrapancreatic levels of exportable enzymes after a fatty meal. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1976; 151: 608-10.
22. Dagorn JC, Sahel J, Sarles H. Nonparallel secretion of enzymes in human duodenal juice and pure pancreatic juice collected by endoscopy and retrograde catheterization of the papilla. *Gastroenterology* 1977; 73: 42-45.
23. Brannon PM. Adaptation of the exocrine pancreas to diet. *Annu Rev Nutr* 1990; 10: 85-105,
24. Singh M, LaSure MM, Bockman DE. Pancreatic acinar cell function and morphology in rats chronically fed an ethanol diet. *Gastroenterology.* 1982; 82:425-34.
25. Hardt PD, Brendel MD, Kloer HU, Bretzel RG. Is pancreatic diabetes (type 3c diabetes) underdiagnosed and misdiagnosed? *Diabetes Care* 2008; 31 Suppl 2: S165-69.
26. Singh J Adegate E, Salido GM, Pariente JA, Yago MD, Juma LOM. Interaction of islet hormones with cholecystokinin octapeptide-evoked secretory responses in the isolated pancreas of normal and diabetic rats. *Experiment Physiol* 1999; 84: 299-318.
27. Hegyi P, Rakonczay Z, Sári R, Czakó L, Farkas N, Góg Cs, Németh J, Lonovics J, Takács T. Insulin is necessary for the hypertrophic effect of cholecystokinin-octapeptide following acute necrotizing experimental pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2275-77.
28. Hardt PD, Hauenschild A, Jaeger C, Teichmann J, Bretzel RG, Koer HU. High prevalence of steatorrhea in 101 diabetic patients likely to suffer from exocrine pancreatic insufficiency according to low fecal elastase 1 concentrations: a prospective multicenter study. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 1688-92.
29. Mancilla C, Hurtado C, Tobar E, Orellana I, Pineda P, Castillo I, Ledezma R, Berger Z. Función pancreática exocrina en diabetes mellitus. Determinación de elastasa fecal. *Rev Med Chile* 2006; 134: 407-14.
30. Hardt PD, Killinger A, Nalop J, Schnell-Kretschmer H, Zekorn T, Klör HU. Chronic pancreatitis and diabetes mellitus. A retrospective analysis of 156 ERCP investigations in patients with insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Pancreatology.* 2002; 2: 30-3.
31. Guéant JL, Champigneulle B, Gaucher P, Nicolas JP. Malabsorption of vitamin B12 in pancreatic insufficiency of the adult and of the child. *Pancreas* 1990; 5: 559-67.
32. Mancilla C, Madrid AM, Hurtado C, Orellana C, Peña M, Tobar E, Berger Z. Sobrecrecimiento bacteriano intestinal en pacientes con pancreatitis crónica. *Rev Med Chile* 2008; 136: 976-80.
33. DiMagno EP, Go VL, Summerskill WH. Relations between pancreatic enzyme outputs and malabsorption in severe pancreatic insufficiency. *N.Engl J Med* 1973; 288: 813-15.

34. Etemad B, Whitcomb D. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001; 120: 682-707.
35. Moskowitz SM, Chmiel JF, Stern DL, Cheng E, Gibson RL, Marshall SG, Cutting GR. Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *Genet Med* 2008; 10: 851-68.
36. Nousia-Arvanitakis S, Fotoulaki M, Tendidou K, Vassilaki C, Agguridaki C, Karamouzis M. Subclinical exocrine pancreatic dysfunction resulting from decreased cholecystokinin secretion in the presence of intestinal villous atrophy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006; 43: 307-12.
37. Bruno MJ, Rauws EA, Hoek FJ, Tytgat GN. Comparative effects of adjuvant cimetidine and omeprazole during pancreatic enzyme replacement therapy. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 988-92.
38. Pap A, Varró V. Proteolytic inactivation of lipase as a possible cause of the uneven results obtained with enzyme substitution in pancreatic insufficiency. *Hepatogastroenterol.* 1984; 31: 47-50.



Good Food, Good Life