

# nutrición clínica

---

## y Dietética Hospitalaria

Nutr. clín. diet. hosp. 2008; 28(3)

**Composición corporal y condición nutricional en estudiantes de ballet cubanos**  
Body composition and nutritional condition in cubans students of ballet

**La enfermera de nutrición como educadora y formadora asistencial en atención primaria y en el ámbito hospitalario: teoría\* y práctica**  
The nurse of nutrition like assistance and educational teacher in primary attention and in the hospital environment: theory\* and practice

**Bacteriocinas de probióticos. Nuevos enfoques bioterapéuticos: PINHE**  
Bacteriocins of probiotics. New biotherapeutical approaches: PINHE

**Panorama actual de la Nutrigenómica. ¿Esperanza o Realidad?**  
Nutrigenomic current panorama. Hope or reality?



---

La revista **Nutrición Clínica y dietética hospitalaria** está indexada en las siguientes Bases de datos:

- CAB Abstracts
  - CAB Health
  - Chemical Abstract
  - EMBASE / The Excerpta Medica Database
  - IBECs (Índice Bibliográfico Español en Ciencias de la salud)
  - IME (Índice Médico Español)
- 

Edición en internet: ISSN: 1989-208X

Edición en papel: ISSN: 0211-6057

Depósito Legal: M-25.025 - 1981

Publicación autorizada por el Ministerio de Sanidad como Soporte Válido. S.V. nº 276

IMPRESIÓN y MAQUETACIÓN: Almira Brea, S.L. - Madrid

© Copyright 2008. Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación

Reservados todos los derechos de edición. Se permite la reproducción total o parcial de los trabajos contenidos en este número siempre que se cite la procedencia y se incluya la correcta referencia bibliográfica.

LORTAD: usted tiene derecho a acceder a la información que le concierne y rectificarla o solicitar su retirada de nuestros ficheros informáticos.

# nutrición clínica

---

## y

---

## Dietética Hospitalaria



**Sociedad Española de Dietética  
y Ciencias de la Alimentación**

### **Edición:**

Fundación Alimentación Saludable. Madrid

### **Remisión de originales:**

Por correo-e: [revista@nutricion.org](mailto:revista@nutricion.org)  
(normas disponibles en la web de la revista)

### **Dirección postal:**

Prof. Jesús Román Martínez Álvarez  
Facultad de medicina, 3ª plta.  
Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación  
Dpto. de enfermería  
Ciudad universitaria - 28040 Madrid

### **Especialidad**

Alimentación, Nutrición y Dietética. Áreas declaradas de interés:

- NUTRICIÓN BÁSICA
- NUTRICIÓN CLÍNICA
- SALUD PÚBLICA
- DIETÉTICA
- NUEVOS ALIMENTOS
- ALIMENTOS E INGREDIENTES FUNCIONALES
- PATOLOGÍA NUTRICIONAL
- OBESIDAD
- TRASTORNOS DE LA CONDUCTA ALIMENTARIA
- MALNUTRICIÓN
- EVALUACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL
- NUTRICION ENTERAL
- NUTRICION PARENTERAL
- SEGURIDAD E HIGIENE ALIMENTARIA
- NUTRIENTES
- NOTICIAS

### **Periodicidad**

3 números al año

### **Título Abreviado**

Nutr. clín. diet. hosp.

### **Internet**

Accesible desde URL = <http://www.nutricion.org>  
Acceso en línea libre y gratuito

### **Dirección**

Dr. Jesús Román Martínez Álvarez  
*Universidad Complutense de Madrid*

Dra. Carmen Gómez Candela  
*Hospital Universitario La Paz (Madrid)*

### **Redactores - jefe**

Dra. Coral Calvo Bruzos  
Dr. Antonio Villarino Marín

### **Comité de Redacción**

Prof. Marià Alemany Lamana.  
*Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular.*  
*Universidad Autónoma de Barcelona.*

Prof. José Cabo Soler.  
*Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular.*  
*Universidad de Valencia.*

Prof. Marius Foz Sala.  
*Catedrático de Patología General y Propedéutica Clínica.*  
*Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona.*

Prof. Andreu Palou Oliver.  
*Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular.*  
*Universidad de las Islas Baleares.*

Prof. Jordi Salas i Salvadó.  
*Universidad Rovira i Virgili. Reus.*

Prof. Manuel Serrano Ríos.  
*Catedrático de Medicina Interna.*  
*Universidad Complutense de Madrid.*

Prof. Carlos de Arpe Muñoz.  
*Dpto. de Enfermería. Universidad Complutense de Madrid.*

Prof. Carlos Iglesias Rosado.  
*Facultad de Ciencias de la Salud.*  
*Universidad Alfonso X el Sabio. Madrid.*

Prof. M<sup>a</sup> Antonia Murcia Tomás.  
*Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.*

Prof. Alberto Cepeda Saéz.  
*Catedrático de Nutrición y Bromatología.*  
*Universidad de Santiago de Compostela.*

Dra. Leonor Gutiérrez Ruiz.  
*Instituto de Salud Pública. Comunidad de Madrid.*

Dra. Lucía Serrano Morago.  
*Comité Científico de la Sociedad Española de Dietética.*

D<sup>a</sup> Ana Palencia García.  
*Directora del Instituto Flora. Barcelona.*

D<sup>a</sup> Marta Hernández Cabria.  
*Área de Nutrición y Salud.*  
*Corporación alimentaria Peñasanta. Oviedo.*

Dr. Javier Morán Rey.  
*Director de Food Consulting & Associates. Murcia.*

Dr. Francisco Pérez Jiménez.  
*Profesor de Medicina Interna. Hospital U. Reina Sofía. Córdoba.*

Dra. Paloma Tejero García.  
*Comité Científico de la Sociedad Española de Dietética.*

### **Comité de Honor**

Dra. Ana Sastre Gallego  
D<sup>a</sup> Consuelo López Nomdedeu  
Dr. José Cabezas-Cerrato

### **Secretaría de redacción**

Diana Vanni Lorente  
Viviana Loria

Dra. Rosario Martín de Santos.  
*Catedrática de Nutrición y Bromatología.*  
*Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.*

Dra. Rosa Ortega Anta.  
*Catedrática de Nutrición y Bromatología.*  
*Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.*

Dr. Alberto López Rocha.  
*Presidente de la Sociedad Española de Médicos de Residencias.*

Dr. Primitivo Ramos Cordero.  
*Presidente de la Sociedad Madrileña de Geriátrica y Gerontología.*

Dra. Victoria Balls Bellés.  
*Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.*

Dra. Pilar Codoñer Franch.  
*Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.*

Dra. Carmen Ambrós Marigómez.  
*Hospital de León.*

Dr. Pedro M<sup>o</sup> Fernández San Juan.  
*Instituto de Salud Carlos III.*

Dr. Joan Quiles Izquierdo.  
*Consejería de Sanidad. Generalitat Valenciana.*

Dr. Ismael Díaz Yubero.  
*Real Academia Española de Gastronomía.*

Prof. Dr. Arturo Anadón Navarro.  
*Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.*

Prof. Dr. David Martínez Hernández.  
*Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.*

D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> Lourdes de Torres Aured.  
*Unidad de Nutrición. Hospital Miguel Servet. Zaragoza.*

Dr. Manuel Moya.  
*Presidente de la Sociedad Española de Investigación en Nutrición y Alimentación Pediátricas.*

Dra. Isabel Polanco Allué.  
*Servicio de Gastroenterología y Nutrición.*  
*Hospital Universitario Infantil La Paz. Madrid.*

Prof. Antonio Sáez Crespo.  
*Presidente de la Asociación iberoamericana de Medicina y Salud Escolar y Universitaria.*

Dra. Mariette Gerber.  
*Presidenta de la Sociedad Francesa de Nutrición.*

Prof. Massimo Cocchi.  
*Presidente de la Asociación Italiana de Investigación en Alimentación y Nutrición.*

---

# Composición corporal y condición nutricional en estudiantes de ballet cubanos

## Body composition and nutritional condition in cubans students of ballet

Vanessa Vázquez Sánchez<sup>1</sup>, Antonio Julián Martínez Fuentes<sup>1</sup>, Ursula Carrillo Estrada<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Gloria Santos Beneit<sup>3</sup>, M<sup>a</sup> Soledad Mesa Santurino<sup>3</sup> y M<sup>a</sup> Dolores Marrodán Serrano<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Museo Antropológico Montané. Facultad de Biología. Universidad de la Habana.

<sup>2</sup> Hospital Pediátrico Docente Pedro Borrás. La Habana.

<sup>3</sup> Dpto. de Zoología y Antropología Física. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.

### Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar y comparar por sexos la composición corporal y la condición nutricional de estudiantes de ballet frente a un grupo control no practicante de la danza. La muestra consistió en 304 alumnos de uno y otro sexo de la Escuela Elemental de Ballet Alejo Carpentier de Cuba, y con edades comprendidas entre 10 y 14 años. El grupo control, de las mismas edades, incluyó 340 escolares asistentes a escuelas de Primaria y Secundaria de la Ciudad de la Habana. Se midieron la estatura, el peso, los perímetros del brazo, cintura y cadera y los pliegues bicipital, tricípital, subescapular y suprailíaco. Se estimaron los índices de conicidad (IC), cintura/cadera (C/C), masa corporal (IMC) y sumatorio de pliegues. Como variables de composición corporal el porcentaje de grasa (G%) y peso magro (PM) aplicando ecuaciones de Durnin y Wormerseley (1974) y Siri (1961). Respecto a la serie control, las bailarinas, excepto para la estatura, presentaron promedios significativamente inferiores, tanto para las medidas directas como para los índices y los parámetros de

composición corporal. Los bailarines tuvieron niveles de adiposidad total y relativa significativamente inferior, menor IC e IMC y un peso magro proporcionalmente más elevado. El 38% de las niñas y el 13,5 % de los niños estudiantes de ballet, presentaron déficit ponderal respecto a las referencias internacionales para el IMC propuestas por Cole *et al.* (2000; 2007). En el grupo de bailarines se estimaron ecuaciones para el cálculo del peso magro y el porcentaje de grasa a partir del peso, el perímetro del brazo y los pliegues subcutáneos.

**Palabras clave.** Composición corporal, antropometría, ballet, condición nutricional, Cuba.

### Abstract

The aim of this study was to evaluate and compare the body composition and nutritional status in ballet students and a group of non-ballet practising by sex. The sample was composed by 304 individuals of both sexes students of The Elementary Cuban Ballet School Alejo Carpentier between 10 and 14 years old. Control group, includes 340 boys and girls aged 10 to 14 from Public Schools of Habana City. Height, weight, mid-arm, waist, hip circumferences and bicipital, tricípital, subescapular and suprailiac skinfold thickness. Conicity index (IC), body mass index (BMI), and waist-to-hip ratio (W/H), skinfold thickness sumatory was calculated. Also, fat percentage (F%) and fat free mass (FFM) was estimated using Durnin y Wormerseley (1974) and Siri (1961) equations. Excepting height, female dancers presented significantly lower values for the direct me-

### Autor principal y dirección:

María Dolores Marrodán Serrano  
Dpto. de Zoología y Antropología Física.  
Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.  
c/José Novais 2, 28040 Madrid.  
mail: marrodan@bio.ucm.es

asures, indices and body composition variables. Male dancers had significantly lower means for skinfold thickness, CI, BMI, F% and a proportionally higher FFM. In the ballet dancer group 38% of girls and 13,5 % of boys had underweight according to international references of BMI proposed by Cole *et al.* (2000; 2007). FFM and % F regresion ecuaciones was estimated in female and male dancers from body weight, arm circumference and skinfold thickness.

**Key words.** Body composition, anthropometry, ballet, nutritional status, Cuba.

## Introducción

La práctica de ballet precisa tanto dominio de la técnica como una alta preparación física. El desempeño de esta disciplina supone la realización de ejercicios de elevado costo energético, lo que convierte a los bailarines en una mezcla de artistas y atletas de alta competición, con una particular morfofisiología y estilo de vida<sup>1,2</sup>. Para alcanzar el éxito artístico, además de potencia muscular, se requiere una figura lineal y estilizada que tradicionalmente ha simbolizado la imagen estética del bailarín. Por ello, el sobrepeso corporal es un factor que limita en la práctica el acceso a la elite y que preocupa en gran medida a los estudiantes de danza clásica. Ciertos estudios sobre comportamiento alimentario en alumnas de ballet reportan que es frecuente que las jóvenes sigan dietas restrictivas o desequilibradas y recurran al uso de laxantes, comprometiendo seriamente su salud<sup>3,4,5</sup>.

Sin embargo el peso -que tanto inquieta a las bailarinas- no resulta por sí mismo informativo ni de la potencialidad muscular ni del exceso de tejido adiposo, elementos que influyen en la capacidad técnica y el canon de una disciplina como el ballet. Tampoco el índice de masa corporal (IMC) logra discriminar la fracción magra de la grasa, ni refleja la adaptación morfológica del organismo al ejercicio, lo que le resta valor como criterio diagnóstico del sobrepeso<sup>6,7</sup>.

La composición corporal, que varía en función del sexo y la edad a la vez que se modifica con el entrenamiento, es un instrumento de diagnosis mucho más preciso en jóvenes deportistas<sup>8,9,10</sup>. Como han sugerido algunos expertos<sup>11</sup> su aplicación específica en las artes dancísticas puede ser de gran ayuda para la evaluación y seguimiento de los talentos profesionales. Así lo expresan también Diaz *et al.*<sup>12</sup> y Betancourt *et al.*<sup>13</sup>, como resultado de sus investigaciones en jóvenes de la

Escuela Nacional de Ballet de Cuba. En esta línea, el objetivo del presente trabajo es analizar la composición corporal en estudiantes de ballet cubanos que están en el nivel elemental, con edades comprendidas entre los 10 y 14 años, haciendo una diferenciación por sexo y contrastando con un grupo control. Se pretende también elaborar unas ecuaciones de predicción que complementen los habituales criterios de selección empleados por los maestros.

## Material y Métodos

Entre junio de 2005 y septiembre de 2008, se realizó un estudio transversal sobre una muestra de 644 niños y niñas cubanos con edades comprendidas entre los 10 y 14 años. La serie de bailarines se compone de 304 estudiantes (96 varones y 208 niñas) de la Escuela Elemental de Ballet Alejo Carpentier de Cuba. Como serie control se tomaron 340 escolares (136 varones y 204 mujeres) asistentes a las Escuelas de Enseñanza Primaria y Secundaria "Augusto Cesar Sandino" "Adolfo González" y "Abel Santamaría" de la Ciudad de la Habana.

Las medidas antropométricas tomadas fueron las siguientes: Peso (Kg), estatura (cm), pliegues subcutáneos tricípital, bicipital, subescapular, supraíliaco (mm) y perímetros de brazo, mínimo de la cintura y cadera (cm). Los procedimientos para la recopilación de datos se realizaron siguiendo las recomendaciones técnicas propuestas por el Programa Biológico Internacional<sup>14</sup> y contando con el previo consentimiento informado de padres y/o tutores.

A partir de las medidas directas se determinaron el índice de masa corporal [IMC: peso (kg)/estatura<sup>2</sup> (m)] el índice cintura-cadera [ICC: perímetro cintura/ perímetro cadera] establecido por Seidell y Deereberg<sup>15</sup> y el índice de conicidad calculado mediante la expresión de Valdez *et al.*<sup>16</sup> [IC: perímetro de la cintura/ (0,109 √ peso/talla)]. La composición corporal se estimó por antropometría calculando la densidad con la ecuación de Durnin y Womersley<sup>17</sup> y el porcentaje de grasa (%G) con la fórmula de Siri<sup>18</sup>. A partir de la adiposidad relativa y el peso total se calculó el peso magro o libre de grasa (PM). Para hacer una valoración de la condición nutricional se establecieron las categorías de normopeso, exceso o déficit ponderal de acuerdo a las referencias internacionales para IMC entre 2 y 18 años, publicadas por Cole *et al.*<sup>19,20</sup>

Para efectuar el procesamiento estadístico se utilizó la versión 15.0 del paquete estadístico SPSS. Se llevó a

cabo un análisis descriptivo de las variables directas y derivadas calculando el valor de la media y la desviación estándar (DE). Se realizó el test de Kolmogorov-Smirnov para comprobar la normalidad de todas las variables y en función de la misma, se empleó la prueba "t" o la U de Mann-Whitney para el contraste de medias entre ambas series (bailarines de ballet y control). Para determinar qué medidas directas son adecuadas para predecir la composición corporal se llevó a cabo un análisis de regresión lineal por pasos con nivel de significación  $p < 0,05$ .

## Resultados y Discusión

En las tablas 1 y 2 se muestra la estadística descriptiva de las variables directas y derivadas respectivamente y el contraste de las medias por sexo atendiendo a práctica de ballet. Al realizar la prueba de Kolmogorov-Smirnov se comprobó que sólo el peso y la estatura presentaban distribución normal para las series masculinas

y femeninas practicantes de ballet y control. Por ello dichas variables se contrastaron con la prueba t y el resto con la prueba U Mann-Whitney.

En el caso de las niñas todas las dimensiones antropométricas directas, excepto la estatura, presentaron diferencias significativas entre practicantes y no practicantes de ballet. Para los chicos sólo resultó significativamente diferente el grosor de los cuatro pliegues adiposos subcutáneos. Por lo que respecta a los índices de proporcionalidad y composición corporal, las discrepancias entre los bailarines de uno y otro sexo y la serie control se acentúan. La menor adiposidad de los estudiantes de danza clásica se refleja en la significativa diferencia para el sumatorio de pliegues y el porcentaje de grasa.

El peso magro o libre de grasa expresa el componente músculo esquelético en términos absolutos. La mayor muscularidad de los varones practicantes de ballet se refleja en el significativamente más elevado peso

**Tabla 1.** Estadística descriptiva de las medidas directas y comparación de las medias por sexo atendiendo a práctica de ballet (en negrilla diferencias estadísticamente significativas,  $p < 0,05$ )

	varones						mujeres					
	Bailarines de ballet (N=96)		Control (N=136)		Contraste		Bailarinas de ballet (N=208)		Control (N=204)		Contraste	
	Media	DE	Media	DE	t/z	p	Media	DE	Media	DE	t/z	p
Peso (kg)	39,76	9,57	40,45	10,80	0,50	0,62	37,52	6,88	42,24	10,07	<b>0,55</b>	<b>0,00</b>
Estatura (cm)	152,02	11,48	149,30	11,92	1,74	0,08	151,83	8,98	150,93	9,93	0,97	0,34
Perímetro brazo (cm)	20,78	2,50	21,17	2,96	0,69	0,49	19,59	2,37	21,59	3,06	<b>7,61</b>	<b>0,00</b>
Perímetro cintura (cm)	60,01	5,04	62,06	6,80	1,91	0,06	56,90	4,45	61,53	7,18	<b>7,35</b>	<b>0,00</b>
Perímetro cadera (cm)	73,82	6,79	75,57	8,35	1,41	0,16	76,06	6,51	80,39	9,09	<b>4,96</b>	<b>0,00</b>
Pliegue tricipital (mm)	7,21	1,90	8,75	4,12	<b>3,00</b>	<b>0,00</b>	9,59	2,65	11,27	5,33	<b>2,94</b>	<b>0,00</b>
Pliegue bicipital (mm)	4,11	1,01	6,22	3,40	<b>5,92</b>	<b>0,00</b>	5,23	2,12	7,83	3,58	<b>8,82</b>	<b>0,00</b>
Pliegue subescapular (mm)	5,55	1,07	8,23	4,62	<b>5,77</b>	<b>0,00</b>	6,73	1,77	10,71	5,55	<b>9,04</b>	<b>0,00</b>
Pliegue suprailiaco (mm)	4,57	1,11	8,91	7,07	<b>6,00</b>	<b>0,00</b>	6,25	2,89	11,47	7,25	<b>9,11</b>	<b>0,00</b>

**Tabla 2.** Estadística descriptiva de los índices y variables de composición corporal y comparación por sexo atendiendo a práctica de ballet. (en negrilla diferencias estadísticamente significativas,  $p < 0,05$ )

	varones						mujeres					
	Bailarines de ballet (N=96)		Control (N=136)		Contraste		Bailarinas de ballet (N=208)		Control (N=204)		Contraste	
	Media	DE	Media	DE	z	p	Media	DE	Media	DE	z	p
ICC	0,80	0,05	0,82	0,04	1,50	0,13	0,75	0,04	0,76	0,05	<b>4,13</b>	<b>0,00</b>
IC	1,08	0,03	1,10	0,05	<b>2,75</b>	<b>0,01</b>	1,05	0,04	1,07	0,05	<b>4,35</b>	<b>0,00</b>
IMC	16,91	1,89	17,87	2,74	<b>2,39</b>	<b>0,02</b>	16,13	1,58	18,44	3,38	<b>7,68</b>	<b>0,00</b>
% Grasa	8,97	1,99	12,63	5,30	<b>5,65</b>	<b>0,00</b>	17,89	3,26	22,22	5,98	<b>8,19</b>	<b>0,00</b>
Peso magro	36,15	8,56	34,99	7,96	<b>3,90</b>	<b>0,00</b>	30,69	5,11	32,53	6,69	<b>8,19</b>	<b>0,00</b>
Σ de Pliegues	21,46	3,74	32,12	17,78	<b>5,64</b>	<b>0,00</b>	27,81	8,15	41,29	19,89	<b>7,31</b>	<b>0,00</b>

magro de estos (36,15 kg) frente al grupo control (34,99). Aunque entre las bailarinas y el grupo control las diferencias son de signo contrario, dicha variable representa en las primeras como promedio el 77% del peso total, mientras que en las segundas es aproximadamente el 81%.

El índice de cintura cadera (ICC), así como el de coxidad (IC) son inferiores en los estudiantes de ballet de uno y otro sexo lo que supone que la práctica del ballet repercute no sólo en la cantidad sino también en la distribución de la grasa, de modo que hay una clara reducción de la adiposidad abdominal respecto a la depositada en el segmento inferior del tronco. El IMC también presenta valores significativamente más bajos en los bailarines.

Para profundizar en el análisis y evaluar la condición nutricional de los sujetos, se clasificó la muestra en las categorías de bajo peso, normopeso y sobrepeso establecidas en función de los puntos de corte para el IMC de las referencias internacionales<sup>19, 20</sup>. Como puede comprobarse en la tabla 3, ningún estudiante de ballet se incluye en la categoría de sobrepeso, mientras que el riesgo de malnutrición por déficit ponderal es significativamente más elevado entre las bailarinas (38%) que entre sus compañeros (13.5%). En el grupo control también se ubican más chicas que chicos en la categoría del bajo peso, aunque las diferencias son de mucho menor rango.

Los resultados expuestos muestran que, en términos generales y respecto a la población general, la morfología femenina se ve más condicionada que la masculina por la práctica del ballet. En Cuba tradicionalmente el número de bailarinas de ballet en las escuelas de arte duplica al de los bailarines. Las primeras deben empezar a prepararse desde edades tempranas ya que el ballet clásico exige una figura de gran linealidad corporal así como control y dominio de las posiciones básicas. Existe una elevada competencia entre ellas y las

exigencias físicas que implican los exámenes de ingreso las obligan a iniciarse en la disciplina como promedio a los 4 años de edad<sup>12, 21</sup>. Por ello, muy probablemente, la morfología y composición corporal que caracteriza a las estudiantes de ballet analizadas, es el resultado tanto de un proceso de selección más precoz como de una adaptación al ejercicio de más larga duración en el tiempo.

Al consultar la literatura sobre el tema, se constata que la gran mayoría de las investigaciones se centran en el ballet femenino de élite o en estudiantes de nivel avanzado. Muy pocos artículos tratan la composición corporal en bailarinas pre-adolescentes. Entre las excepciones cabe citar el estudio semilongitudinal de Matthewus *et al.*<sup>22</sup> en australianas de 8 a 14 años o el de Soric *et al.*<sup>23</sup> en croatas. Estos últimos, aportan cifras muy semejantes a las del presente estudio (17,89) para el porcentaje de grasa en una serie femenina de 9 y 13 años compuesta por gimnastas y bailarinas de danza clásica (18,3%). Trabajos llevados a cabo en las integrantes del Ballet Nacional de Croacia<sup>11, 24</sup>, dan resultados similares al analizar una muestra de 30 bailarinas profesionales frente a 30 mujeres no deportistas, reseñando valores significativamente más bajos de grasa corporal en las primeras (18,85%). La media de edad de estas profesionales del ballet croata era de 17,4 años con una desviación de 2,01 y la técnica analítica para la estima de la adiposidad relativa fue la impedancia bioeléctrica (BIA). En dicho grupo la proporción de practicantes de ballet por debajo de la insuficiencia ponderal de acuerdo a los puntos de corte internacionales para el IMC era del 50%, aún más elevada que en este estudio.

Dado que la presente muestra es numerosa e incluye uno y otro sexo se decidió elaborar ecuaciones de predicción de variables de composición corporal. Se pretende que sirvan de complemento a los criterios "de percepción volumétrica de la figura" empleados por los maestros de la disciplina. Como se muestra en la tabla

**Tabla 3.** Clasificación de la condición nutricional de la muestra a partir de los puntos de corte para el IMC propuestos en las referencias internacionales de Cole *et al.* (2000; 2007).

Varones:  $\chi^2 = 10,60$ ;  $p < 0,05$ . Mujeres:  $\chi^2 = 52,04$ ;  $p < 0,001$

	Varones		mujeres	
	Bailarines de ballet (N=96)	Control (N=136)	Bailarinas de ballet (N=208)	Control (N=204)
Insuficiencia ponderal (%)	13.5	11.9	38	17.7
Normopeso (%)	86.5	77.8	62	64.5
Sobrepeso/obesidad (%)	-	10.3	-	17.8

**Tabla 4.** Ecuaciones de regresión para predecir el peso magro y el porcentaje de grasa en bailarines y bailarinas de ballet.

sexo	Ecuación	R <sup>2</sup>	SEE
varones	Peso magro = 0,891 * peso + 0,725	0,992	0,78
<b>mujeres</b>	Peso magro = 0,724 * peso + 3,539	0,949	1,16
varones	Peso magro = 4,033 + 0,962 * peso - 0,296 * p brazo	0,993	0,73
<b>mujeres</b>	Peso magro = 7,420 + 0,798 * peso - 0,340 * p brazo	0,964	0,98
varones	% de Grasa = 0,526 * Σ pliegues - 2,31	0,979	0,28
<b>mujeres</b>	% de Grasa = 0,389 * Σ pliegues + 7,085	0,941	0,79

4, el peso total explica el 99 % y 94 % de la variabilidad del peso magro en varones y mujeres respectivamente. Hergenroeder *et al.*<sup>25</sup> publicaron ecuaciones de regresión para predecir peso magro a partir del peso total en población femenina practicante de ballet con edades entre 11 y 25 años obteniendo un valor de  $R^2 = 0,88$ . En el presente estudio el nivel de predicción se eleva, sobre todo en la serie femenina, al añadir el perímetro del brazo. Por lo que respecta a la adiposidad relativa, el sumatorio de los cuatro pliegues (bicipital, tricípital, subescapular, y suprailíaco) explica el 94 % (mujeres) y 99 % (varones) del porcentaje de grasa total.

Como se deduce de los resultados recabados en la bibliografía y los obtenidos aquí, ya comentados en párrafos anteriores, las bailarinas de ballet constituyen un grupo bastante homogéneo desde el punto de vista morfofisiológico. Sus características de composición corporal resultan muy similares con independencia de su origen poblacional. La selección y la adaptación al ejercicio desde temprana edad contribuyen muy fuertemente a esta identidad del morfotipo que caracteriza a la danza clásica. Por este motivo, las ecuaciones propuestas podrían ser eventualmente aplicadas a cualquier grupo de practicantes de ballet entre 10 y 14 años.

## Conclusiones

Las diferencias entre los bailarines de ballet y la población control, ponen de manifiesto que la morfofisiología femenina se ve más afectada que la masculina por los criterios de selección y el entrenamiento. En el caso de las niñas todas las dimensiones antropométricas directas, excepto la estatura, presentaron diferencias significativas entre practicantes y no practicantes de ballet. Para los chicos sólo resultó significativamente diferente el grosor de los cuatro pliegues adiposos subcutáneos. Por lo que respecta a los índices de proporcionalidad y composición corporal, las discrepancias entre los bailarines y la serie control se acentúan. Los

primeros presentan niveles de adiposidad total y relativa significativamente inferior, así como un peso magro proporcionalmente más elevado. El monitoreo de la composición corporal y la aplicación de ecuaciones propias para la determinación del peso graso o del porcentaje de grasa pueden ser útiles para complementar el juicio de los maestros en los procesos de selección de talentos para la disciplina.

## Financiación

Este trabajo se ha realizado con la financiación del Ministerio de Ciencia y Tecnología (Proyecto CGL2005-03752 sobre "Biodiversidad y Nutrición de las Poblaciones Humanas") y como parte del convenio entre el Museo Antropológico Montané y el Hospital Pedro Borrás con la Escuela Elemental de Ballet Alejo Carpentier (Cuba).

## Bibliografía

1. Clarkson PM, Freedson PS, Skrinar M, Keller B, Carney D. Anthropometric measurements of adolescents and professionals classical ballet dancers. *The J. Sport Med. & Phys. Fitness*.1989; 29 (2): 157-162.
2. Betancourt H, Goberna A, Albizu-Campos JC. Estilo de vida de bailarinas de la Escuela Cubana de Ballet. En: Memorias del V Taller Internacional Mujeres en el Siglo XXI. Universidad de La Habana. Publicación Digital. ISBN 959-7164-51 2003 La Habana.
3. Carmenate MM, Martínez AJ. Maduración sexual femenina y ballet en Cuba. *Estudios de Antropología Biológica. V Coloquio Antropología Física. Juan Comas*.1991; 365-374.
4. Eliakim A, Ish-Shalom S, Giladi A, Falk B, Constantini N Assessment of body composition in ballet dancers: correlation among anthropometric measurements, bio-electrical impedance analysis, and dual-energy X-ray absorptiometry. *Int J Sports Med*. 2000; 21(8):598-601.
5. Koutedakis Y, Jamurtas A The dancer as a performing athlete: physiological considerations. *Sports Med*. 2004; 34(10):651-61.
6. Marrodán MD, Mesa MS, Alba JA, Ambrosio B, Barrio PA, Drak L, Gallardo M, Lermo J, Rosa JA, González-Montero de Espinosa M.

- Diagnosis de la obesidad: actualización de criterios y su validez clínica y poblacional. *Ann. Esp.Pediatr.*(Barc). 2006; 65(1): 5-14.
7. Telford RD, Cunningham RB, Daly RM, Reynolds GJ, Lafferty AR, Gravenmaker KJ, Budge MM, Javaid A, Bass SL, Telford RM. Discordance of international adiposity classifications in Australian boys and girls. The Look study. *Ann. Hum. Biol.* 2008; 3: 334-341
  8. Kerr D, Ackland T, Schreiner A. The elite athlete assessing body shape, size, proportion and composition. *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition.*1995; 4: 25-29.
  9. Pérez, BM. Efectos del entrenamiento sobre el crecimiento y desarrollo en niños y adolescentes. *Tribuna del Investigador.*1997; 4(2): 102-111.
  10. Rodríguez, A. El niño y la selección de talentos deportivos para la alta competencia. En: Avendaño P. (Compilador) *Introducción a la investigación bioantropológica en actividad física, deporte y salud.* Universidad Central de Venezuela. 2006: 111-140.
  11. Mihajlovi? B, Mijatov S. Body composition analysis in ballet dancers. *Med Pregl.* 2003; 56(11-12):579-83.
  12. Díaz ME, Reboso J, Martínez AJ, Toledo E, Wong I, Moreno V, Matos D. Desarrollo físico y estado nutricional en estudiantes de ballet. VIII Simposio de Antropología física Luis Montané. Universidad de la Habana. 2003.
  13. Betancourt H, Aréchiga J, Díaz ME, Ramírez CM. Composición corporal de bailarines adolescentes de la Escuela Nacional de Ballet de Cuba. *Antropo.* 2007;15: 23-33.
  14. Weiner JS, Lourie JA. *Practical Human Biology.* London: Academic Press. 1981
  15. Seidell JC, Deerenberg I. Obesity in Europe: prevalence and consequences for use of medical care. *Pharmacoeconomics.*1994; 5:38-44
  16. Valdez R, Seidell JC, Ahn YI, Weiss KM. A new index of abdominal adiposity as an indicator of risk for cardiovascular disease. A cross population study. *Int J. Obesity.* 1992; 16:77-82
  17. Durnin JVGA, Womersley J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness measurements on 481 men and women aging from 16 to 72 years. *Brit. J. Nutr.*1974; 32: 77-97.
  18. Siri WE. Body composition from fluid spaces and density. En Brozek J, Henschel A. *Techniques for measuring body composition.* Washington: National Academy of Sciences. 1961
  19. Cole TJ, Bellizzi KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ.*2000; 320: 1240-5.
  20. Cole TJ, Flegal KM, Nicholls D, Jackson AA Body mass index cut offs to define thinness in children and adolescents: international survey. *BMJ.*2007; 335: 194-201.
  21. Betancourt, H. Consideraciones de género en la práctica profesional de ballet en Cuba. En: Memorias del VI Taller Internacional Mujeres en el Siglo XXI. Universidad de La Habana. Publicación Digital.ISBN 959-7164-34-5: 696-702.2005.La Habana.
  22. Matthews BL, Bennell KL, McKay HA, Khan KM, Baxter-Jones AD, Mirwald RL, Wark JD. Dancing for bone health: a 3-year longitudinal study of bone mineral accrual across puberty in female non-elite dancers and controls. *Osteoporos Int.* 2006; 17 (7): 1043-54.
  23. Soric M, Misigoj-Durakovic M, Pedisic Z. Dietary intake and body composition of prepubescent female aesthetic athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2008;18(3):343-54.
  24. Misigoj-Durakovi? M, Matkovi? BR, Ruzi? L, Durakovi? Z, Babi? Z, Jankovi? S, Ivanci?-Kosuta M. Body composition and functional abilities in terms of the quality of professional ballerinas. *Coll Antropol.* 2001; 25(2):585-90.
  25. Hergenroeder AC, Brown B, Klish WJ. Anthropometric measurements and estimating body composition in ballet dancers. *Med Sci Sports Exerc.* 1993; 25(1):145-50.

## **La enfermera de nutrición como educadora y formadora asistencial en atención primaria y en el ámbito hospitalario: teoría y práctica**

### **The nurse of nutrition like assistance and educational teacher in primary attention and in the hospital environment: theory and practice**

M<sup>a</sup> Lourdes de Torres Aured\*, Mercedes López-Pardo Martínez\*\*, Ana Domínguez Maeso\*\*\*, Cristina de Torres Olson\*\*\*\*

\* *Nutrición y Dietética. H. U. "Miguel Servet". Zaragoza.*

\*\* *Nutrición y Dietética. H. U. "Reina Sofía". Córdoba.*

\*\*\* *Nutrición y Dietética. Hospital Ciudad de Jaén.*

\*\*\*\* *Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud. Zaragoza.*

#### **Resumen**

Con esta exposición se pretende visualizar cómo las funciones asistenciales y educacionales que las enfermeras llevan a cabo diariamente, están basadas en la evidencia científica. Diseñadas y avaladas por comités de expertos, compuestos por enfermeras pioneras que han sentado cátedra, conformado doctrinas modelos y teorías; y para que se compruebe cómo todo ello lo aplica la enfermera a la educación y asistencia nutricional cotidiana.

Las enfermeras pueden demostrar que saben por qué hacen lo que hacen ya que la Teoría les brinda autonomía profesional porque orienta las funciones asistenciales, docentes e investigadoras. De ahí la importancia de las intervenciones enfermeras en el equipo pluriprofesional que aumenta gracias al conocimiento teórico y práctico, porque los métodos desarrollados científicamente tienen más posibilidades de ofrecer buenos resultados.

Con este trabajo se pretende dar a conocer al resto de profesionales, la terminología y la filosofía de la

ciencia enfermera con que se realizan las funciones, así como los procesos de desarrollo de los razonamientos lógicos en la aplicación de las intervenciones nutricionales.

Los Cuidados de las enfermeras en Nutrición son asistir, informar, formar, educar, asesorar y adiestrar, desde el aspecto bio-psico-social del paciente y con un desarrollo estructurado en diferentes etapas. Tras el diagnóstico nutricional y educativo la enfermera, pauta el adiestramiento del paciente, ofreciendo atención integral y evaluación continua de resultados. Todo ello con actitud científica, abierta, constante, personalizada y con empatía.

En los equipos pluriprofesionales, las enfermeras son responsables de proporcionar los cuidados y conocimientos necesarios para atender y educar a las personas en distintas etapas del ciclo vital. Los hábitos alimentarios son un factor determinante del estado de salud de la población, porque se configuran en la infancia y se desarrollan y asientan a lo largo de la vida del sujeto, pudiendo influir sobre ellos a través de programas educativos que refuercen las pautas de conducta alimentaria adecuadas.

Haciendo un breve recorrido por las teorías desarrolladas por las grandes pensadoras enfermeras, nos encontramos continuas referencias a los cuidados nutricionales.

---

#### **Correspondencia:**

Marilourdes de Torres Aured  
Hospital Miguel Servet. Zaragoza.  
marilourdes@ono.com

Como **Objetivos generales** de las intervenciones enfermeras están conseguir un estado nutricional correcto promoviendo una conducta que fomente la salud a través de la nutrición.

La Clasificación de las Intervenciones Enfermeras, según la Enfermería Basada en la Evidencia está desarrollada de acuerdo a:

- Actividad de Cuidados.
- Intervención a considerar.
- Intervenciones alternativas.
- Valoración del posible resultado.
- Valoración de los posibles efectos.
- Valoración de los posibles riesgos.

Al desarrollarlas las enfermeras realizan todas las actividades necesarias para:

- Valorar las necesidades nutricionales en las diferentes etapas de los ciclos vitales.
- Valorar las necesidades nutricionales en el periodo de enfermedad.
- Enseñar a nutrirse de forma equilibrada.
- Adecuar una alimentación e hidratación correcta a sus circunstancias.
- Ayudar a la adquisición del Índice de Masa Corporal correcto
- Adiestrar para un tránsito seguro de líquidos y sólidos.
- Preparación y administración del soporte nutricional artificial.
- Seguimiento nutricional completo y continuado.
- Evaluación total y parcial de resultados.
- Preparación para el alta hospitalaria

La importancia de la Formación Continua al resto de las enfermeras de Atención Primaria y en el hospital queda patente en el equipo pluriprofesional y por eso se deben diseñar metodológicamente las materias a desarrollar.

Los **Objetivos de formación** que tiene la enfermera de nutrición son: 1) Proporcionar los conocimientos y habilidades necesarias para que la enfermera de base de AP y de hospitalización, solvente los problemas nutricionales del usuario-paciente. 2) Enseñar a resolver con el paciente, situaciones prácticas y problemas de salud, relacionados con la alimentación-nutrición. 3) Aportar a los equipos pluri-profesionales, los beneficios de nuestras intervenciones y conocimientos como

Expertos en Cuidados. 4) Adaptar las materias del programa de formación a la estructura del Proceso de Atención de Enfermería (PAE)

Estos aspectos de las intervenciones enfermeras consisten en diseñar una Metodología con arreglo a la Enfermería Basada en la Evidencia, para que la enfermera reconozca los datos presentados y tenga fácil acceso a la formación. Analizar los estudios elegidos sobre los Cuidados es fundamental para, integrar datos, monitorizar resultados, tabular las características y aplicar las conclusiones.

Formar a las enfermeras en la aplicación de las técnicas de escucha-transmisión, provoca sinergia al compartir con el equipo objetivos comunes, desde el buen hacer profesional; actuando con empatía siempre DESDE, CON, POR y PARA el paciente.

### Palabras claves

Metodología de cuidados enfermeros. Adiestramiento nutricional. Equipo pluriprofesional. Gestión de Cuidados. Atención integral. Formación Continuada. Metodología docente. Sinergia.

### Abreviaturas

Proceso de Atención de Enfermería (PAE). Clasificación de Intervenciones Enfermeras (CIE). Clasificación de Resultados Enfermeros (CRE). Enfermería Basada en la Evidencia (EBE). Atención Primaria (AP). Atención Especializada (AE). Unidad de Nutrición y Dietética (UND). Nutrición Artificial (NA) Nutrición Artificial Domiciliaria (NAD).

### Summary

With this exhibition it is sought to visualize how the assistance and educational functions that the nurses carry out daily, they are based on the scientific evidence. Designed and endorsed by committees of expert, composed by pioneer nurses that have sat down class, conformed doctrines models and theories; and so that he/she is proven how everything applies it to it the nurse to the education and daily nutritional attendance.

The nurses can demonstrate that they know why that makes they make the Theory since it offers them professional autonomy because it guides the assistance, educational functions and investigators. Of there the importance of the interventions nurses in the team pluriprofesional

that increases thanks to the theoretical and practical knowledge, because the methods developed scientifically have more possibilities to offer good results.

With this work it is sought to give to know to the rest of professionals, the terminology and the philosophy of the science nurse with which they are carried out the functions, as well as the processes of development of the logical reasoning in the application of the nutritional interventions.

The Cares of the nurses in Nutrition are to attend, to inform, to form, to educate, to advise and to train, from the patient's bio-psico-social aspect and with a development structured in different stages. After the nutritional and educational diagnosis the nurse, averages the patient's training, offering integral attention and continuous evaluation of results. Everything it with a scientific attitude, open, constant, personalized and with empathy.

In the teams pluriprofesionales, the nurses are responsible for providing the cares and necessary knowledge to assist and to educate people in different stages of the vital cycle. The alimentary habits they are a decisive factor of the state of the population's health, because they are configured in the childhood and they are developed and they agree along the fellow's life, being able to influence on them through educational programs that reinforce the appropriate rules of alimentary behavior.

Making a brief journey by the theories developed by the excellences and thinkers nurses, we are continuous references to the nutritional cares.

As general Objectives of the interventions nurses get a correct nutritional state promoting a behavior that foment the health through the nutrition.

The Classification of the Interventions Nurses, according to the Based Infirmary in the Evidence is developed according to:

- "Activity of Cares.
- "Intervention to consider.
- "Alternative interventions.
- "Valuation of the possible result.
- "Valuation of the possible effects.
- "Valuation of the possible risks.

When developing them the nurses they carry out all the necessary activities for:

- "To value the nutritional necessities in the different stages of the vital cycles.

- "To value the nutritional necessities in the period of illness.

- "To teach to be nurtured in a balanced way.

- "To adapt a feeding and correct hydrate to their circumstances.

- "To help to the acquisition of the correct Index of Corporal Mass

- "To train for an I traffic sure of liquids and solids.

- "Preparation and administration of the artificial nutritional support.

- "Complete and continuous nutritional pursuit.

- "Total and partial evaluation of results.

- "Preparation for the high one hospital

The importance of the Continuous Formation to the rest of the nurses of Primary Attention and in the hospital it is patent in the team pluriprofessional and for that reason with a concrete methodology the matters should be designed to develop.

The formation Objectives are: 1) to provide the knowledge and necessary abilities so that the nurse of base of AP and of hospitalization, solvent the nutritional problems of the user-patient one. 2) to teach to solve with the patient, practical situations and problems of health, related with the feeding-nutrition. 3) to contribute the teams pluri-professionales, the benefits of our interventions and knowledge like Experts in Cares. 4) to adapt the matters from the formation program to the structure of the Process of Attention of nurses' care.

These aspects of the interventions nurses consist on designing a Methodology with arrangement to the nurses' cares Based in the Evidence, so that the nurse recognizes the presented data and have easy access to the formation. To analyze the elected studies on the Cares is fundamental for, to integrate data, to monitor results, to tabulate the characteristics and to apply the conclusions.

To form the nurses in the application of the listen-transmission techniques, it causes synergy when sharing with the team common objectives, from the good one to make professional; always acting with empathy FROM, WITH, and FOR the patient.

## Abreviations

Nursing Attention Process (PAE). Nursing Interventions Classification (NIC). Nursing Objects Classi-

ficación (NOC). Primary Attention (PA). Specialized Attention. Unit of Nutrition and Dietary (NDU). Nursing Evidences (NE). Artificial Nutrition (AN). Domiciliary Artificial Nutrition (DAN)

### Key words

Nurses' cares Methodology. Nutritional training. The teams pluri-professionals. Administration of Cares. Integral attention. Continuous formation. Educational methodology. Synergy.

### Introducción

La OMS dentro del marco Salud XXI, dice que "para el año 2015 todos los grupos de población deberán haber adoptado unos modelos de vida más sanos y propone acciones que faciliten las elecciones saludables en relación con la nutrición y el ejercicio físico".<sup>14</sup> En España toda la población tiene asignada una enfermera con atención directa al paciente y familia, así como a grupos de población y ésta es una primera puerta de entrada general al sistema sanitario de referencia; por lo que una política educativa en alimentación desde las Consultas de Enfermería, debe proporcionarles los suficientes elementos de juicio.

La Enfermería a lo largo del tiempo se ha desarrollado como ciencia y como profesión, pero todo cambio, y aún más toda consolidación, debe ir respaldada por un método que aporte fiabilidad y le dé sentido a la práctica haciéndola útil y funcional.

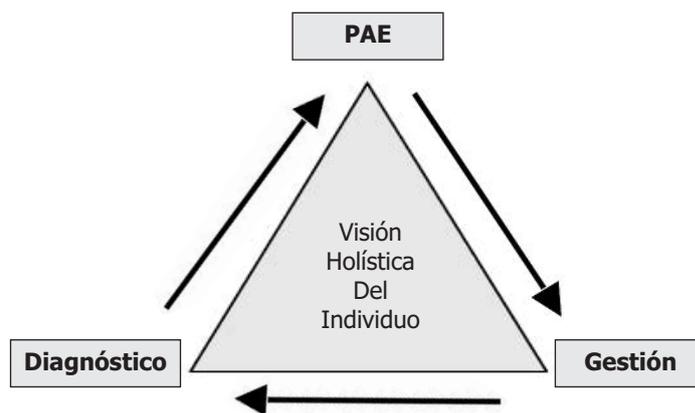
Florence Nightingale<sup>6-7</sup> (considerada la primera enfermera de la era moderna) fue la primera persona que dedicándose a atender pacientes, promulgó unas normativas de higiene y de salud al estructurar los primeros conceptos de ventilación, calor, luz, limpieza, ruido y dieta.

Los Cuidados de las enfermeras en Nutrición son asistir, informar, formar, educar, asesorar y adiestrar, desde el aspecto bio-psico-social del paciente y con un desarrollo estructurado en diferentes etapas.

Por todo ello el presente y el futuro de la Enfermería<sup>3</sup> pasa por el cuidado integral al paciente, su familia y la comunidad; teniendo como objetivo principal conseguir que las personas logren el mayor nivel de autocuidados mejorando sus hábitos de vida. Una de sus principales tareas es y será la educación, identificación de necesidades, la información profesional y personalizada y la gestión de cuidados nutricionales.

Los problemas de salud con los que se enfrenta Enfermería, implican la necesidad de una sistematización científica que comienza desde el mismo momento en que estos se observan, ya se trate del ambiente hospitalario, comunitario, docente, institucional o nacional.

La aplicación del método científico en la práctica asistencial enfermera, es el método conocido como Proceso de Atención de Enfermería. Este método permite a las enfermeras prestar cuidados de una forma racional, lógica y sistemática. Es un sistema de planificación en la ejecución de los cuidados de Enfermería, compuesto de cinco pasos: valoración, diagnóstico, planificación, ejecución y evaluación. Como todo método, el PAE configura un número de pasos sucesivos que se relacionan entre sí. Aunque el estudio de cada uno de ellos se hace por separado, en la puesta en práctica las etapas se superponen con sinergia.



La valoración enfermera detecta el déficit de conocimientos en nutrición o el deseo de mejorar los mismos. La enfermera realiza el diagnóstico educativo y pauta el adiestramiento del paciente, ofreciendo atención integral y evaluación continuada de resultados. Todo ello con actitud científica, constante, negociadora, empática y enérgica.

### Objetivos

#### 1. OBJETIVOS DE CUIDADOS NUTRICIONALES

<sup>5-14</sup> Los hábitos alimentarios son un factor determinante del estado de salud de la población, porque se configuran en la infancia y se desarrollan y asientan a lo largo de la vida del sujeto, pudiendo influir sobre ellos a través de programas educativos que refuercen pautas de conducta alimentaria adecuadas. En los equipos pluriprofesionales, las enfermeras son responsables

de proporcionar los cuidados y conocimientos necesarios para atender y educar a las personas en distintas etapas del ciclo vital.

Dentro de las necesidades básicas del individuo, la alimentación e hidratación son prioritarias en el cuidado integral razonado, científico y profesional; ya que al analizar las causas de mortalidad<sup>4</sup> en nuestro país, encontramos que ocho de cada diez están relacionados con la alimentación y la ingesta de alcohol.

Al aplicar el proceso, enfermero se buscan los siguientes objetivos:

#### a) Como objetivos generales<sup>5-14-15</sup>

- Conseguir un estado nutricional correcto
- Promover una conducta que fomente la salud a través de la nutrición
- Asegurar el conocimiento del régimen terapéutico nutricional.
- Promover los auto cuidados

#### b) Como objetivos Específicos:

- Valorar las necesidades nutricionales en las diferentes etapas de los ciclos vitales.
- Valorar las necesidades nutricionales en el periodo de enfermedad.
- Enseñar a nutrirse de forma equilibrada.
- Adecuar una alimentación e hidratación<sup>29</sup> correcta a sus circunstancias.
- Ayudar a la adquisición del Índice de Masa Corporal correcto
- Adiestrar para un transito seguro de líquidos y sólidos.
- Preparación y administración del soporte nutricional artificial.
- Seguimiento nutricional completo y continuado.
- Evaluación total y parcial de resultados.
- Preparación para el alta hospitalaria

## 2. OBJETIVOS DE FORMACIÓN

- 1) Proporcionar los conocimientos y habilidades necesarias para que la enfermera de base de AP y de hospitalización, solvente los problemas nutricionales del usuario-paciente.
- 2) Enseñar a resolver con el paciente, situaciones prácticas y problemas de salud, relacionados con la alimentación-nutrición.

3) Aportar a los equipos pluri-profesionales, los beneficios de nuestras intervenciones y conocimientos como Expertos en Cuidados.

4) Adaptar las materias del programa de formación a la estructura del Proceso de Atención de Enfermería (PAE)

## Desarrollo

Los primeros estudios sobre la Enfermería en los años 1950 se ocuparon de la filosofía, la definición y el fundamento metodológico de la Enfermería. La comunicación interpersonal fue objeto de gran interés durante la década de 1960. A finales de esos años, la atención de los investigadores se desplazó hacia la Enfermería como ciencia. A partir de 1980 la Enfermería se ha afianzado en la satisfacción de las necesidades del individuo como ciencia, como arte, como comunicación y como humanismo.

El termino anglosajón "nurse con el que se designa a la enfermera, deriva de dos palabras latinas "nutriré" alimentar y "nutrix" mujer que alimenta (lactancia).

Haciendo un breve recorrido por las teorías desarrolladas por las grandes pensadoras enfermeras, nos encontramos continuas referencias a los cuidados nutricionales.

## 1. TENDENCIAS DE LAS TEORÍAS DE ENFERMERÍA

Victoria Henderson<sup>1-2</sup> define la Enfermería en términos funcionales: "La función propia de la Enfermería es asistir al individuo, sano o enfermo, en la realización de aquellas actividades que contribuyen a la salud o a su recuperación (o a la muerte pacífica), que éste realizaría sin ayuda si tuviera la fuerza, la voluntad o el conocimiento necesarios. Y hacerlo de tal manera que lo ayude a ganar independencia a la mayor brevedad posible". Ella define catorce necesidades básicas del individuo, que comprenden los componentes de los Cuidados de Enfermería; y dentro de ellas la número dos es "Comer y beber adecuadamente".

Calixta Roy<sup>8-9-10</sup> agrupa las etapas del Proceso de Atención y de Cuidados enfermeros en cinco elementos, a los que añadimos los subsiguientes contenidos.

1. Valoración de los hechos: Introducción al tema y valoración del paciente en tratamiento.
2. Diagnóstico enfermero: Manejo inefectivo del régimen terapéutico, déficit de conocimientos, alteraciones en la nutrición por exceso o por defecto.

3. **Planificación de los cuidados:** Características de la dieta terapia prescrita, conocimiento de las complicaciones potenciales, cálculo de las dosis de fármacos y nutrientes.
4. **Ejecución de las actividades:** Educación sanitaria, control de la nutrición básica, administración de fármacos conociendo las indicaciones, prevención de posibles efectos tóxicos o conociendo los posibles efectos tóxicos.
5. **Evaluación de los resultados:** Control de los efectos deseados y no deseados, evaluación del cumplimiento terapéutico y del estado nutricional.

Estas etapas ayudan a facilitar la adaptación del individuo al proceso (nutricional en este caso).

Según los modelos conceptuales de Evelyn Adam<sup>11</sup>: "La enfermería tiene una función propia, aunque comparte ciertas funciones con otros profesionales. La enfermera debe tener un modelo conceptual en los cuidados a fin de obtener una identidad profesional concreta y afirmarse como colega de los otros miembros del equipo pluriprofesional"

Basándose en algunos de los modelos conceptuales, todas las Intervenciones enfermeras en nutrición se adaptan para conseguir que sea capaz de mantener y/o restaurar la independencia del usuario/paciente para la satisfacción de las necesidades fundamentales. Por ello todos los objetivos se aplican con una determinada **metodología**<sup>14-15</sup>:

- Enseñanza de macro y micro nutrientes.
- Composición de los alimentos y equivalencia por grupos.
- Manejo de los grupos de alimentos.
- Hidratación.
- Adiestramiento del ritmo de ingestas.
- Control del ejercicio físico.
- Adecuación y manejo de las fobias y las filias alimentarias.

Para Hildegard Peplau<sup>12-13</sup>, todas las intervenciones enfermeras son una combinación de: la aplicación de los principios del aprendizaje social, el concepto de motivación humana y el del desarrollo de la personalidad.

Uniendo con lo dicho sobre ella anteriormente, F. Nightingale<sup>6-7</sup> al introducir la dieta en sus normativas de atención al paciente, decía que la enfermera no sólo debía estimar la ración alimenticia sino la puntualidad de las comidas, la adecuación de las mismas y su efec-

to sobre los pacientes. Decía que para el seguimiento alimenticio es imprescindible "la educación, la observación, el ingenio y la perseverancia". Por eso insistía también "en la enfermería de salud" la prevención de las enfermedades, incluía una dieta alimenticia que la enfermera debía adecuar y enseñar. Insistía en que la salud se mantenía gracias a la prevención de la enfermedad por vía de los factores de salud ambiental y una dieta adecuada (toda una visionaria para su tiempo).

Para ello instruye en cómo incluir todos los grupos de alimentos, en proporciones y frecuencias, adaptando lo que las Guías alimentarias recomienda.

## 2. MARCO CONCEPTUAL ACTUAL

La necesidad de un marco conceptual está asociada a la práctica profesional de una disciplina; por lo que las enfermeras necesitan un sistema lo más fiable posible de comunicación para poder interactuar en el equipo de trabajo sanitario.

En 1973 se crea la NANDA (North American Nursing Diagnoses Association) a partir de este momento se han realizado grandes avances en el terreno de la unificación del lenguaje profesional. Pocos años más tarde este proyecto se completa con la clasificación de las intervenciones enfermeras (NIC) y por último la de los resultados (NOC).

La implantación de una metodología propia y un lenguaje común permite a los enfermeros/as acceder a la investigación en el área de cuidados

La Enfermería Basada en la Evidencia, consolida el ejercicio profesional poniendo énfasis en la efectividad de los procedimientos cuidadores. Porque aplicando la EBE, se busca demostrar el papel que desempeña el conocimiento científico enfermero.

Por todo ello el presente y el futuro de la Enfermería<sup>3</sup> pasa por el cuidado integral al paciente, su familia y la comunidad, basándose en la evidencia científica y con la mayor eficacia; teniendo como objetivo principal conseguir que las personas logren el mayor nivel de autocuidados. Una de sus principales tareas es y será la educación, identificación de necesidades, la información profesional y personalizada y la gestión de cuidados.

## 3. ENFERMERÍA BASADA EN LA EVIDENCIA

Madeleine Leininger<sup>24</sup> presenta los Cuidados de Enfermería como el foco intelectual más unificador, dominante y central; porque son variados y complejos

dado que incluyen conceptos relacionados con conductas, procesos, necesidades, consecuencias, conflictos y lagunas en la práctica universal.

Presentar el uso consciente, explícito y juicioso de esos datos registrados, como eficacia para la toma de decisiones, va unido y contrapuesto a: Las opiniones; la tradición; la experiencia; las suposiciones; los reparos que se pueden plantear el paciente o la enfermera.

Para homologar estos aspectos de las actuaciones, se diseña una **Metodología** que reconozca los datos presentados y tenga fácil acceso a la formación, ya que analizar los estudios elegidos sobre los Cuidados es fundamental para integrar datos y monitorizar los resultados. Una vez tabuladas las características docentes, se aplican las conclusiones. Es conveniente contactar con otros investigadores para ampliar las posibilidades de trabajar en sinergia.

Al analizar estos estudios podemos no encontrar ninguna evidencia y entonces se deben revisar todos los Protocolos de Investigación, o generar nosotros la evidencia. Si por el contrario encontramos una evidencia hay que aplicar los resultados y comenzar la evaluación.

En el acceso a la evidencia nos encontramos con dificultades primarias como barreras de idioma, o poca cantidad de información, o mala calidad de los estudios, o existir pocos ensayos clínicos enfermeros. También nos encontramos con un sesgo de población elegida por patologías y no por sintomatología o cuidados.

Resulta muy conveniente conocer la existencia de resultados negativos que no han sido publicados, para no caer en los mismos errores.

A la hora de buscar o aplicar estudios de EBE hay que diferenciar entre:

- Revisiones narrativas basadas en la opinión.
- Revisiones sistemáticas basadas en la evidencia.

Lo más eficaz es poder encontrar estudios descriptivos con calidad que satisfagan las necesidades asistenciales y educacionales de los enfermeros, de la población sana y de la población enferma.

Abraham Maslow<sup>26</sup> en su teoría de la motivación y de la personalidad humana señala: "La presente teoría se debe considerar como un programa indicativo para ulteriores investigaciones y debe sustentarse, o desmoronarse, no tanto a partir de los hechos conocidos o las evidencias presentadas, como desde las investigaciones que quedan por hacer".



(Pirámide de la Teoría de las Necesidades)

Maslow<sup>26</sup> desarrolla así su Teoría de las Necesidades: Las **fisiológicas básicas** (alimentos, agua, aire, excreción) son las fundamentales a cubrir. Después le siguen la de **seguridad** (protección), la de **aceptación social** (amor, amistad, afecto, pertenencia, camaradería), de **autoestima** (reconocimiento, auto valía, ego, éxito, prestigio). Todas ellas son denominadas como *Necesidades del déficit*. La última de **autorrealización** (auto cumplimiento, de lo que uno es capaz) es a la que se le enclava en *Necesidad de ser*.

Al respecto de las necesidades fisiológicas Maslow<sup>26</sup> creía, apoyado en sus investigaciones, que éstas eran de hecho necesidades individuales. Ponía como ejemplo que la falta de Vit. C conduciría a esta persona a buscar específicamente aquellos alimentos que proveían de vit. C como es el zumo de naranja. En ese aspecto es donde esta teoría conductual sirve en muchas ocasiones en la aplicación de los cuidados de enfermería. El individuo puede cubrir sus necesidades con la ayuda de la enfermera o con su encauzamiento en la consecución de autoayuda

Con un desarrollo estructurado de los Cuidados nutricionales, se facilita el aprendizaje y simplifica la ardua tarea del adiestramiento del usuario en el equilibrio nutricional. La implementación en la cobertura de todas estas necesidades por parte de la enfermera, se destaca en los cuidados de los pacientes con cirugía bariátrica<sup>27</sup> y en la <sup>28</sup>atención de los Trastornos de la Conducta Alimentaria.

La comunidad científica coincide en que una <sup>14</sup>dieta equilibrada, una buena hidratación y movimiento, son los pilares de la salud a cualquier edad..Para llevar a cabo esta máxima nutricional, la enfermera aplica teorías y modelos para satisfacción de estas necesidades básicas con empatía y de manera personalizada.

#### 4. INTERVENCIONES ENFERMERAS APLICADAS A LA NUTRICIÓN

Es muy fácil adecuar este conjunto de teorías y aplicarlo al adiestramiento nutricional; ya que tanto la Gestión de cuidados nutricionales, como los Diagnósticos enfermeros<sup>17</sup> de nutrición y el Proceso de Atención Enfermera, se hace desde una visión holística del paciente.

**4.1. La enfermera de Atención Primaria<sup>14</sup>** procura mejorar el nivel de conocimientos de la población, referente a la elección adecuada de alimentos, las características de una dieta equilibrada y los riesgos del consumo habitual de alimentos considerados poco saludables. En caso de enfermedad el manejo de las texturas en el caso de disfagia o el seguimiento del cumplimiento de la dieta prescrita a los pacientes crónicos como hipertensos, obesos o diabéticos.

En este campo el adiestramiento de los cuidadores de pacientes frágiles o dependientes cobra especial interés. En muchos casos estos pacientes tienen prescrito soporte nutricional artificial lo que hace imprescindible un asesoramiento y evaluación continua.

La enfermera aplica las técnicas de escucha-transmisión, según la base del sujeto emisor y del sujeto receptor y fomenta la Cultura alimentaria<sup>23</sup> en la educación para la Salud con habilidades de comunicación que generan confianza y relaciones humanas personales y/o grupales con determinación emocional y de valores.

La evaluación sobre comprensión, aprendizaje y aplicación de técnicas de adiestramiento, ha de ser frecuente y pautada regularmente.

**4.2. En el medio hospitalario la enfermera de la UND** es el profesional enfermero de referencia en materia de nutrición. Se ocupa del cuidado nutricional del paciente hospitalizado aplicando el Código de dietas.

La enfermera de la UND colabora en la elaboración, cumplimentación y realiza el seguimiento de las dietas hospitalarias. Es la responsable del diseño de las recomendaciones para uso domiciliario. Asimismo en muchos casos es la encargada de gestionar el seguimiento y monitorización del circuito alimentario del hospital, con la colaboración del servicio de hostelería.

En la clínica es la responsable de que se realice un plan de cuidados en el que estén contemplados los cuidados nutricionales sobre todo en caso de prescripción de Nutrición Artificial siendo la encargada del

entrenamiento de los pacientes y/o las familias de los candidatos a este tipo de soporte, enseñándoles el uso y mantenimiento de todo el material y fórmulas nutricionales y de los cuidados de las vías de acceso antes de que el paciente abandone el hospital. Para asegurar la eficacia de la NAD, es necesario un protocolo de monitorización y seguimiento del paciente que garantice la continuidad de cuidados en el que están implicadas las enfermeras de la UND, las enfermeras de hospitalización y las de AP formadas en este tipo de soportes nutricionales. En todo caso se debe garantizar que el paciente reciba un informe de continuidad de cuidados.<sup>30</sup>

En las consultas externas interactúa con la consulta médica especializada de diagnóstico y tratamiento nutricional, liderando las consultas de enfermería de las UND como educadora nutricional y coordinando la nutrición a domicilio. Estas consultas de enfermería son el eslabón que enlaza los cuidados enfermeros entre el hospital y AP.

Dentro de los Programas de Formación Continuada, la enfermera de Nutrición es la responsable de organizar las redes de aprendizaje y coordina el diseño de acciones formativas con la enfermería de hospitalización en materia de alimentación-nutrición. Asimismo con las enfermeras de AP organiza Programas similares.<sup>23</sup>

#### 5. INTERVENCIONES COMUNES EN AP Y AE3-5

Las situaciones específicas sobre las que actúa la enfermera, tanto en Atención Primaria como en Atención Especializada son:

- 1.- PROBLEMAS DE MALNUTRICIÓN: Identifica, registra, controla y corrige.
- 2.- SALUD NUTRICIONAL: Protocoliza cuidados y educación, informa y adiestra, registra, monitoriza y evalúa.
- 3.- GESTIÓN DE CUIDADOS: Diseña el plan estratégico, administra los recursos materiales, distribuye los recursos humanos, aplica los cuidados enfermeros a la alimentación-nutrición<sup>31</sup>.

<sup>17-18-19</sup>Y todo esto aplicando el marco conceptual adaptado NANDA (Asociación Americana de Diagnósticos de Enfermería):

- Clasificación de intervenciones enfermeras (CIE)
- Clasificación de resultados enfermeros (CRE)

## Descripción de algunas de las actividades principales

### 1. GESTIÓN DE CUIDADOS

Dorothea Orem<sup>20-21</sup> escribe: "Los sistemas de Enfermería se forman cuando las enfermeras utilizan su capacidad para prescribir, planificar y proporcionar cuidados a los pacientes (individual o en grupos) llevando a cabo acciones separadas y sistemas de acción. Estas intervenciones o sistemas regulan el valor y el ejercicio de aptitudes individuales para comprometerse y afrontar los requisitos terapéuticos de auto-cuidados del individuo". La cronología que se impone es:

- Descripción del Proceso a seguir.
- Reflexión (Diferencias entre síntomas y patologías. Ej: La intervención enfermera será sobre la "disfagia", sin ser muy importante que ésta provenga de un cáncer de esófago o de una ELA)
- Integración de Creencias.
- Integración de Valores.
- Formación científica.
- Experiencia asistencial y docente.

Al gestionar las intervenciones enfermeras es importante fomentar las habilidades de comunicación<sup>22</sup> en la consulta de enfermería y en hospitalización. Habilidades que además de comunicación fluida y capacidad docente, deben sustentarse en una sólida formación científica, una información detallada y una actitud abierta y tenaz.

### 2. TÉCNICA DE ESCUCHA-TRANSMISIÓN

En la relación enfermera-paciente, tanto en AP como en AE, es importante contar con las capacidades comunicativas de ambos sujetos:

#### A) Sujeto emisor

- ← Lo que se quiere decir.
- ← Lo que se sabe decir.
- ← Lo que se dice.

#### B) Sujeto receptor

- Lo que se oye.
- Lo que se escucha.
- Lo que se comprende.
- Lo que se aprende.
- Lo que se retiene.
- Lo que se acepta.
- Lo que se practica

Para comprobar que la estrategia de adiestramiento de cada uno de los pasos del receptor comporta un buen proceso protocolizado, debe hacerse una evaluación continuada.

### 3. PROTOCOLIZACIÓN DE LOS CUIDADOS EN NUTRICIÓN

H. Peplau<sup>12-13</sup> identifica cuatro fases en la relación enfermera-paciente:

- 1) orientación
- 2) identificación
- 3) aprovechamiento
- 4) solución.

Por eso las Etapas cognitivas para elaborar un Protocolo deben desarrollarse dando prioridad a la Atención Integral debida a pacientes, familia y comunidad con la formulación de una estrategia, la búsqueda de la mejor evidencia, una valoración crítica y con la evaluación de la decisión.

Cualquier contingencia extraordinaria y/o urgente se puede resolver con eficacia, eficiencia y efectividad, únicamente cuando los cuidados están protocolizados<sup>30</sup>

### 4. FORMACIÓN CONTINUADA<sup>16</sup>

La importancia de la Formación Continuada queda patente cuando en el equipo pluriprofesional puede plantearse qué hace la enfermera de Nutrición para formar al resto de las enfermeras, en AP y en el hospital. La aplicación de las grandes teorías y evidencias, han de ir unidas a teorías de pequeño y medio alcance y así poder orientar el ejercicio profesional, adaptando teorías de varias disciplinas profesionales. Enfermería se ha beneficiado de teorías pertenecientes a otras disciplinas, a la vez que la enfermería está beneficiando con sus teorías a otras disciplinas. Aunando este conjunto de beneficios inter disciplinares, se debe:

- Definir los objetivos a conseguir.
- Especificar los criterios a seguir.
- Elaborar un Protocolo educacional.
- Diseñar el plan de actuación docente.

Como primer Planteamiento de Trabajo para garantizar la formación de enfermeras en nutrición, se diseña un patrón de materias elegidas<sup>5-23</sup>:

1. EQUILIBRIO NUTRICIONAL: Dietética, Dietoterapia, Requerimientos Nutricionales, Bromatología.
2. VALORACIÓN NUTRICIONAL: Malnutrición, Nutrición Enteral, Nutrición Parenteral.

Hay un tercer apartado que se imparte como formación complementaria a la nutricional:

### 3. GESTIÓN de CUIDADOS: Diagnósticos Enfermeros, Estrategias de Gestión, Relaciones Interpersonales, Comunicación, Planteamientos de Investigación.

Los **Objetivos de formación**<sup>5</sup> que tiene la enfermera de nutrición son:

- Proporcionar los conocimientos y habilidades necesarias para que la enfermera de base de AP y de hospitalización, solvente todos los problemas nutricionales que tenga el usuario-paciente.
- Enseñar a resolver con el paciente, situaciones prácticas y problemas de salud, relacionados con la alimentación-nutrición.
- Aportar a los equipos pluri-profesionales, los beneficios de nuestras intervenciones y conocimientos como Expertos en Cuidados.

### Conclusiones

Este artículo pretende realizar un análisis cualitativo que aporte las claves históricas y metodológicas de los cuidados enfermeros en nutrición. Esperamos mostrar los beneficios pluriprofesionales y especialmente para el paciente de la integración de la actividad asistencial diaria de la enfermera en el equipo interprofesional.

Los beneficios principales son:

- Evidencia científica.
- Experiencia clínica.
- Experiencia docente.
- Recursos reales y posibles.
- Contexto de Atención.
- Priorizar los tipos de Cuidados.

Desarrollar todos estos apartados conlleva: **a)** Incrementar la investigación enfermera en técnicas y cuidados. **b)** Incorporar a la asistencia nutricional diaria, todas las evidencias halladas y REGISTRARLAS.

El área de Enfermería en los cuidados de salud adapta <sup>1-2</sup>la cobertura de todas las necesidades del individuo, comenzando por la más básica que es la de estar adecuadamente nutrido. El resto de necesidades son una proyección y un complemento de la primera y eso hace que los cuidados nutricionales se proporcionen atendiendo integralmente al usuario en todas sus necesidades físicas, emocionales, afectivas y sociales; adiestrando en el manejo de las fobias y las filias respecto de algunos alimentos en aras de conseguir una <sup>14</sup>dieta equilibrada. Esto conlleva un alto grado de complejidad

y formación para la enfermera que exige más que nunca la identificación y comprensión de todos los elementos del <sup>8-9</sup>PAE porque los cuidados y su manera de gestionarlos requieren una estrategia protocolizada.

Madelaine Leininger<sup>24</sup> dice que el estudio y la clasificación sistemática de las Creencias, los Valores y los Conocimientos del individuo, se encauzan en los cuidados de enfermería con un lenguaje local, experiencias, creencias y sistemas de valores, consensuados con el usuario.

La enfermera en AP y en AE indaga en la naturaleza de los cuidados basándose en el razonamiento lógico, a la vez que emplea métodos empíricos en su desarrollo. <sup>11</sup>Por ello gestiona funciones que le son propias y protocoliza y monitoriza las intervenciones enfermeras en nutrición, aportando una atención bio-psico-social en sinergia con el paciente: <sup>3-5-14</sup>

- Valora necesidades nutricionales e hídricas<sup>29</sup> en las diferentes etapas del ciclo vital y en situaciones fisiológicas especiales.
- Valora las necesidades de hidratación interna y externa de los individuos a su cargo<sup>29</sup>.
- Define y corrige los desajustes en el balance hídrico<sup>29</sup>.
- Desarrolla los diagnósticos de enfermería y los aplica a la nutrición y alimentación.
- Conoce los hábitos sociales y prácticas religiosas, para manejar déficit, fobias y filias alimentarias.
- Colabora en la valoración del estado nutricional; en la detección, tratamiento y prevención de la Malnutrición, así como en las consecuencias y factores que la agravan.
- Informa, educa, adiestra y realiza los cuidados nutricionales y el seguimiento asistencial al paciente.
- Monitoriza al paciente con NA, durante la hospitalización y en el domicilio según un Protocolo establecido, asegurando una administración eficaz y una mejora en su calidad de vida.
- Organiza, coordina y participa en la formación y asistencia para conseguir una alimentación saludable de colectividades, de colegios, de trabajadores sanitarios, de estudiantes de disciplinas varias, etc.
- Atiende las demandas formativas institucionales y las propias del equipo de enfermería.
- Realiza y/o colabora en estudios de investigación, para mejorar las diferentes actividades tanto propias como del equipo, teniendo como herramienta la Enfermería Basada en la Evidencia.

¿Y cuáles son esos supuestos beneficios que aportan las enfermeras como Expertos de Cuidados?

- \* Sinergia al compartir con el equipo objetivos comunes, desde el buen hacer profesional.
- \* Actuar siempre DESDE, CON, POR y PARA el paciente.

Una atención integral e integrada con valores de excelencia en los cuidados nutricionales, hace que el producto enfermero resulte eficaz, eficiente y efectivo.

Porque como escribe Madelaine Leininger<sup>24</sup> **“pueden existir Cuidados sin Curación; pero nunca podrá existir Curación sin Cuidados”**.

## Bibliografía

1. Henderson, V. "The principles and practice of nursing". New York: McMillan. 1978.
2. Henderson, V. "The nature of nursing: A definition and its implications for practice, research and education". McMillan, New York. 1966.
3. Instituto Nacional de la Salud, publicación: "La Enfermería. Cuidar: una profesión". Madrid.
4. James, WPT. "Nutrición Saludable. Prevención de las enfermedades relacionadas con la Nutrición en Europa". EASP. 1994.
5. Asociación de Enfermeras de Nutrición y Dietética. [www.adenyd.org](http://www.adenyd.org) / Área de Capacitación (Martín, Díaz, de Torres, López-Pardo, Motilla y col)
6. Nightingale, F. "Notes on nursing" Lippincott, Philadelphia. 1957. (Edición de la publicación original de 1857).
7. Nightingale, F. "Selected writings". Recopilación elaborada por Lucy R. Seymer. Ed. McMillan, New York. 1954
8. Roy, C. "The impact of nursing diagnosis". AORN Journal. May, 1975.
9. Roy, C. "Conceptual framework for primary care in baccalaureate programs" Primary Care Conference. U.S. Department of Health, Education and Welfare. Denver, Col. 1978.
10. López-Pardo, M y col. "Adaptación de la Enseñanza Universitaria de Farmacología, Nutrición y Dietética a la Metodología Enfermera". Escuela Universitaria de Enfermería de Córdoba. 2006
11. Adam, E. "Modèles conceptuels". Nursing Papers: Perspectives en Nursing, 15 (2):10-21. 1983.
12. Peplau, H.E. "Interpersonal relations in nursing". New York: G.P. Putnam's Sons. 1952.
13. Peplau, H.E. "Basics principles of patient counseling". Smith, Kline and French Laboratories. Philadelphia. 1964.
14. De Torres Aured, ML; Francés Pinilla, M; Martínez Álvarez, JR. "La dieta equilibrada. Guía para enfermeras de Atención Primaria." Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación. SEDCA 2007. [www.nutricion.org](http://www.nutricion.org).
15. Serra Majem, LI; Salleras Sanmartín, LI. Consejo dietético y nutricional en Atención Primaria de Salud. En: Serra, Aranceta, Mataix. "Nutrición y Salud pública. Métodos y bases científicas y aplicaciones", Masson SA. Barcelona 1995.
16. Ganzel, R. Adelante, ¡hazme aprender! Training & Development Digest; Sep. 1999; pag. 28-33. Madrid.
17. Diagnósticos de Enfermería según la Taxonomía NANDA. Definiciones y Clasificación. 2003.
18. Clasificación de Intervenciones Enfermeras. Consejo General de Enfermería. Madrid. 2004.
19. Clasificación de Resultados Enfermeros. Consejo General de Enfermería. Madrid. 2004.
20. Oren, D.E. "Concept of practice". McGraw-Hill. New York. 2ª Ed. 1980.
21. Oren, D.E. "Concept formalization in nursing: Process and product". Little Brown. Boston. 1979.
22. De Torres, L. ¡La 7ª emoción! Training & Development Digest; Sep. 1999; pag 56. Madrid.
23. De Torres Aured, ML. "Dietética, Dietoterapia y Nutrición Artificial para Enfermeras". Mª Lourdes de Torres Aured-Nutricia Laboratorios. Zaragoza. 1997.
24. Leininger, M. "Care: The essence of nursing and health". Charles B. Slack, Inc. Thorofare, NJ. 1984.
25. Leininger, M. "Cultural change, ethics and the nursing care implications". Ed. University of Utah, College of Nursing. Salt Lake City. 1980.
26. Maslow, A. "Motivation and Personality". Ed. Robert Frager. 1970, 2ª Ed.
27. López-Pardo, M; de Torres, ML; Díaz, J. "Cuidados de los pacientes con cirugía bariátrica" Revista de Medicina. Universidad de Navarra. Vol 50. Nº 4. Octubre-Diciembre. 2006.
28. De Torres, ML. "Asesoramiento en Nutrición 2: Trastornos de la Conducta Alimentaria" Enfermería y Salud. Colegio de Enfermería. Zaragoza. Julio 2001.
29. De Torres, ML. "Hidratación y cuidados" Revista Española de Nutrición Comunitaria. Vol.14. Nº 2. Abril-Junio 2008.
30. Romero González, Candela Fuster. "Metodología de Cuidados enfermeros". CCOO Federación de Sanidad. 2006
31. Medina Moya JL "Deseo de cuidar y voluntad de poder. La enseñanza de la enfermería". Publicacions I Edicions. Universidad de Barcelona. 2005
32. "Proceso de soporte: Nutrición Clínica". Consejería de Salud Junta de Andalucía. 2006

## **Bacteriocinas de probióticos. Nuevos enfoques bioterapéuticos: PINHE**

### **Bacteriocins of probiotics. New biotherapeutical approaches: PINHE**

Dolz M. C.

*Doctora en Farmacia. Centro de Información del Medicamento del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza. España.*

#### **Resumen**

La prevención de enfermedades y la conservación de los alimentos han motivado que el mundo industrial y el científico se interese por conocer con mayor detalle el modo de acción de los probióticos como alimentos funcionales y en particular las bacteriocinas que producen, por sus propiedades antimicrobianas. Cada día se descubren más bacteriocinas y se analizan sus mecanismos de acción a nivel molecular. No cabe duda, que en los próximos años se tendrá un mejor conocimiento de estos péptidos, que permitan aprovechar al máximo su potencial en beneficio del hombre, no sólo a nivel de la industria alimentaria como conservadores, sino además como nuevas alternativas antibióticas y como bioterapéuticos en la prevención de ciertas patologías. En este último sentido, Halocina H6 y en concreto PINHE (un péptido derivado de esta bacteriocina procedente de haloarqueas), ha mostrado ser un buen candidato para prevenir los daños ocasionados por isquemia y repercusión en el infarto de miocardio.

**Palabras clave:** Bacteriocinas, probióticos, PINHE, Halocina H6, inhibición Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>, infarto de miocardio.

#### **Abstract**

The prevention of the occurrence of diseases in the individuals and the conservation of the foods has motivated that the industrial world and the scientist is interested to know with greater detail the way action the probiotics and in particular those that produce bacteriocins, for their antimicrobial properties. Every day more bacteriocins are discovered and analyzed its mechanisms of action at the molecular level. There is no doubt that in the next few years will have a better understanding of these peptides, which allow to maximize their potential for the benefit of man, not only at the level of the food industry as a conservative, but also as new antibiotic options and as bioterapeutics in the prevention of certain diseases. In the latter regard, Halocina H6 and in particular PINHE (a peptide derived from this haloarchaeal bacteriocin) has been shown to be a good candidate for preventing damage caused by ischemia and reperfusion, in myocardial infarction.

**Key words:** Bacteriocins, probiotics, PINHE, Halocina H6, Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> inhibition, Myocardial infarction.

---

#### **Correspondencia:**

M.C. Dolz

Tel.: 34 976 481 415; Fax. +34 976 481 418

E-mail: mcarmendolz@redfarma.org

## Introducción

A través de la evolución, los microorganismos han desarrollado distintas estrategias para competir por nutrientes en su medio ambiente. Por ejemplo algunos han mejorado sus sistemas de quimiotaxis y otros han elaborado compuestos antimicrobianos para inhibir a otros miembros del ambiente. Diversas son las sustancias antagónicas que los microorganismos producen para dominar en su hábitat, desde los antibióticos de amplio espectro, productos del metabolismo como ácidos orgánicos, moléculas quelantes de hierro (sideróforos) y bacteriocinas.

La bioconservación es un método basado en el empleo de microorganismos, o de sus productos metabólicos, para inhibir o destruir microorganismos indeseables. Una forma de actuar de los llamados probióticos para lograr alcanzar un buen estado de salud del individuo, es a través de la resistencia otorgada contra la invasión de microorganismos patógenos. Entre las bacterias probióticas más utilizadas para el consumo humano se encuentran (aunque no de forma exclusiva) las llamadas bacterias ácido lácticas (BAL), que incluyen a las siguientes: *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. casei* spp *rhamnosus*, *L. delbrueckii* spp *bulgaricus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *Lactococcus lactis* spp *lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. longum*, *B. breve*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, entre otros <sup>1</sup>.

Las BAL proporcionan sabor y textura, incrementan el valor nutricional de los alimentos, y ya desde hace décadas se vienen utilizando en la industria alimenticia como bioconservadores, debido a la producción de bacteriocinas y otras sustancias que ejercen acción antibacteriana contribuyendo a prevenir la descomposición de los alimentos.

Las bacteriocinas de las BAL son péptidos que impiden el crecimiento de bacterias alterantes y patógenas de los alimentos, con la ventaja frente a los conservadores químicos, de ser proteínas que al biodegradarse no forman compuestos secundarios.

En la naturaleza existe una enorme diversidad de este tipo de sustancias. Las bacteriocinas han sido encontradas en casi todas las especies bacterianas examinadas hasta la fecha, y aún dentro de una especie podrían ser producidas diferentes tipos de bacteriocinas. Se piensa que el 99% de todas las bacterias pueden producir cuando menos una bacteriocina y la única ra-

zón de que no se hayan aislado es debido a que han sido muy poco estudiadas.

Las bacteriocinas se definen como proteínas y péptidos biológicamente activos, que tienen propiedades bactericidas contra otras especies estrechamente relacionadas, miembros de la misma especie o especies muy relacionadas con la cepa productora. Sin embargo, recientemente este concepto se ha modificado, ya que se ha encontrado también acciones bactericidas contra cepas distancias filogenéticamente de la cepa productora.

Entre las bacteriocinas más representativas a nivel de la industria alimentaria están <sup>1</sup>:

- Nisina, descrita en 1928, fue la primera bacteriocina aislada a partir de la bacteria ácido láctica *Lactococcus lactis* subsp *lactis*. Es la bacteriocina mejor caracterizada. Es un péptido de 34 aminoácidos y bajo peso molecular (inferior a 5 KDa) utilizada como conservador de alimentos y la única reconocida por la FDA con la categoría GRAS (Generally Recognized As Safe). No requiere de un receptor unido a la membrana de la célula blanco ya que reconoce la composición fosfolipídica de la célula. Su síntesis es compleja requiriendo procesos de transcripción, traducción, modificaciones post-traduccionales, secreción, procesamiento, y señales de transducción. Se produce de forma natural en algunos productos lácteos donde se utiliza como aditivo para prevenir la descomposición ocasionada por bacterias Gram positivas, especialmente *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Listeria*.
- Pediocina PA-1 y sakacina P son péptidos que tienen la secuencia consenso en la región N-terminal TGNGVXC con un papel importante en la capacidad de reconocimiento de la membrana de la célula blanco. Pediocina es producida por *Pediococcus acidilactici* se utiliza como conservador en productos vegetales y cárnicos y se ha observado una elevada actividad contra especies de *Listeria* por lo que tiene un alto potencial para ser utilizado como conservador en alimentos lácteos.
- Lactococcina G y plantaricinas EF y JK, también de síntesis compleja (regulada por la acción de 5 operones con 21 genes diferentes) son formadores de complejos de poración y tienen actividad antimicrobiana cuando interactúan como un sistema de 2 péptidos diferentes necesarios para la formación de poros y consecuente disipación del potencial de membrana.

- Divergicina A y acidocina B, son péptidos pequeños, termoestables, no modificados y que se transportan mediante péptidos líder. Divergicina A, producida por *Caernobacterium divergens* LV13, se caracteriza por poseer un sistema de secreción que involucra la presencia de un péptido señal. Tiene un peso molecular de 4.6 kDa, es de naturaleza hidrofóbica y posee en su extremo N-terminal un sitio de rompimiento Ala-Ser-Ala (a diferencia de la acidocina B que tienen un sitio de rompimiento Gli-Gli), y actúa como péptido señal para el uso del sistema de secreción de la célula.
- Helveticinas J y V, acidofilicina A y lactacinas A y B son péptidos grandes (mayores de 30 kDa), siendo poco conocidas sus características bioquímicas y su modo de acción. Helveticina J, producida por *Lactobacillus helveticus*, se encuentra de manera natural en quesos madurados, es una proteína de 37 kDa. termolábil (30 min a 100°C) y el gen que la produce se localiza en el DNA cromosomal.
- Lactococina A es una bacteriocina producida por ciertas cepas de *Lactococcus lactis*. A diferencia de otras bacteriocinas producidas por bacterias lácticas, como la nisina o la pediocina PA-1, su espectro antimicrobiano es muy reducido y se limita a ciertas cepas de lactococos. Sin embargo, la lactococina A puede tener aplicaciones prácticas en la industria láctea ya que ejerce un efecto lítico sobre lactococos empleados como cultivos iniciadores en las industrias queseras. La liberación de enzimas intracelulares en la matriz del queso juega un papel importante en el desarrollo de las propiedades organolépticas y en la aceleración de la maduración de ciertos tipos de quesos <sup>2</sup>.
- Enterocina P (EntP) es una bacteriocina producida por *E. faecium* P13, una BAL aislada de un chorizo elaborado artesanalmente, y que muestra una potente actividad antimicrobiana frente a *Listeria monocytogenes*. A pesar de su innegable potencial como conservante natural de los alimentos, dicha bacteriocina está producida por una cepa de *Enterococcus*, un género que se ha asociado, en algunas ocasiones, a problemas de tipo sanitario. Por tanto, la selección de la EntP como bioconservante alimentario pasaría por su producción en hospedadores más seguros o en otros microorganismos de interés en la industria alimentaria (*Escherichia coli*, *Methylobacterium extorquens*, *Lactococcus lactis* y *Pichia pastoris*) <sup>3</sup>.
- Enterocina AS-48, que podría utilizarse a medio plazo como bioconservante de alimentos, es una bacteriocina producida por *Enterococcus faecalis* S-48. Se caracteriza por poseer una estructura circular, es decir, por tener sus extremos unidos, a diferencia de la gran mayoría de proteínas, que poseen un comienzo y un final. AS-48 es muy estable frente al pH y la temperatura y posee un amplio espectro de acción frente a numerosas bacterias, incluidas bacterias patógenas transmitidas por alimentos, por lo que es una molécula idónea para ser utilizada como bioconservante. Además dado que, en los últimos años el aumento de la resistencia bacteriana a antibióticos ha hecho necesaria la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos, los péptidos antimicrobianos catiónicos naturales, como las bacteriocinas, "constituyen una buena alternativa" <sup>4</sup>.

El conocimiento del modo de actuación de las bacteriocinas sobre las membranas bacterianas permitirá en el futuro, diseñar moléculas antimicrobianas con nuevas características siendo hoy un importante campo de investigación.

Los efectos beneficiosos de los probióticos en la salud humana y en la nutrición están siendo cada vez más reconocidos. Diferentes grupos de trabajo, que estudian las propiedades y la funcionalidad de los microorganismos vivos en la dieta, sugieren que los probióticos desempeñan un papel importante en las funciones digestivas, inmunitarias y respiratorias, y podrían tener un efecto significativo en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, especialmente en los niños y en las poblaciones de alto riesgo.

El tema de las bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas contenidas en la comida fermentada ha sido objeto de estudio durante los últimos 20 años. Se han caracterizado numerosos péptidos y ambos campos (probióticos y bacteriocinas) han atraído la atención de la comunidad científica para hacer frente al problema de las resistencias bacterianas. De hecho, dos antibióticos (la nisina y la lacticina se han utilizado para la prevención de la mastitis <sup>5</sup>.

Resulta de enorme interés a nivel biomédico el estudio de las halocinas, proteínas del tipo bacteriocina producidas por microorganismos del Dominio Archaea, siendo de destacar los estudios realizados con **Halocina H6**, cuya actividad sobre el intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (NHE) es atribuida a un péptido derivado de la misma y que se denomina **PINHE**.

El intercambiador NHE, es un mecanismo presente en las membranas de todos los tipos celulares, tanto procariotas como eucariotas, y cataliza un intercambio electroneutro de  $H^+$  intracelular por  $Na^+$  extracelular<sup>5-9</sup>. Se sabe desde hace años que participa a nivel celular en procesos vitales que dependen del intercambio iónico transmembrana, tales como homeostasis de iones, pH intracelular, volumen celular, adhesión, determinación de la forma, migración y proliferación. La actividad normal del NHE es por tanto de importancia vital para la célula. Sin embargo, hay situaciones en las que existe un proceso anormal de hiperactividad del NHE que conducen a un proceso patológico. Desde el punto de vista tisular el NHE está implicado en diversos procesos fisiológicos y patológicos de vital importancia como la isquemia cardiaca, cerebral e intestinal, en los procesos de reperfusión tras un periodo de isquemia, la diuresis, la hipertensión arterial, la división de las células tumorales, la acidez gástrica, el transporte epitelial, la activación de los macrófagos, etc.<sup>10-12</sup>. El tratamiento de todos estos procesos patológicos mencionados anteriormente, podría verse mejorado en caso de disponer de un buen inhibidor del NHE. La investigación acerca de la inhibición del intercambiador NHE, ha cobrado interés en los últimos años, dado el efecto protector observado sobre miocardio isquémico y reperfundido tras un infarto. La hipótesis sobre la que se trabaja es, que como consecuencia de la isquemia se produce una escasez de energía y una acidificación del citoplasma de las células cardíacas que activa el intercambiador NHE. Como consecuencia, se produce una acumulación de  $Na^+$  intracelular en intercambio con  $H^+$  que fuerza al intercambiador  $Na^+/Ca^{++}$  a operar en sentido inverso, produciendo un aumento del  $Ca^{++}$  citosólico hasta niveles tóxicos que conducen a la muerte celular. La utilización de un inhibidor del intercambiador  $Na^+/H^+$  puede mejorar dicho cuadro patológico al evitar este "efecto cascada". Así lo demuestran diversos trabajos con productos sintéticos que ejercen esa acción inhibidora, amiloride y sus análogos (EIPA, DMA, MIA, AHMA)<sup>13-18</sup>. Otros inhibidores sintéticos, HOE694 y HOE642, en fase de experimentación, ejercen también efectos beneficiosos post-isquémicos, tanto sobre arritmias como a nivel de la hemodinámica y mecánica cardiaca<sup>11;14;19-23</sup>. Cariporide y Zoniporide otros derivados más específicos y potentes, que han mostrado ser efectivos por reducir la zona de necrosis en infartos experimentales de miocardio, tienen el grave inconveniente de ser poco reversibles<sup>24-26</sup>.

Ya en 1996 se demostró el efecto protector que tenía sobre la isquemia cerebral el bloqueo de NHE, gracias a experimentos con un modelo celular de isquemia basado en el bloqueo de la glucólisis<sup>27</sup>. Más tarde, estudios con un inhibidor sintético (SM20200) demostraron que la activación de NHE estaba directamente relacionada con los daños celulares neuronales y de la glia y que la inhibición de NHE tendría un gran valor terapéutico<sup>28</sup>. Dicha inhibición reduciría la progresión de los daños de la isquemia y la formación del edema cerebral y atribuirían parte de esos daños a la acumulación de neutrófilos que se reduciría por la inhibición de NHE<sup>29</sup>.

En la actualidad no se dispone de inhibidores fisiológicos de origen natural específicos del intercambiador NHE. Los NHE son inhibidos por compuestos sintéticos como amiloride<sup>30</sup> y sus análogos como EIPA<sup>31</sup>, pero no lo hacen de forma específica, inhibiendo a la vez otros intercambiadores, como  $Na^+/Ca^{++}$  y canales inespecíficos de  $Na^+$ . A pesar de estas limitaciones con elevado número de efectos secundarios, amiloride se está utilizando en terapéutica como diurético. Por otra parte, algunos derivados de la benzoilguanidina que han mostrado ser más específicos y potentes, Cariporide (HOE 642), HOE 694<sup>11;12</sup> y Zoniporide tienen el grave inconveniente de ser difíciles de revertir<sup>24-26</sup>.

Frente a este grave inconveniente que es la falta de reversibilidad, tenemos las halocinas que proceden de microorganismos del Dominio Archaea y de las cuales se han aislado y purificado algunas de ellas<sup>32-34</sup> comprobándose un efecto inhibidor sobre intercambiadores  $Na^+/H^+$  de halobacterias<sup>35</sup>. En concreto, se ha aislado una cepa sobreproductora de **halocina H6**, la cepa alicante SPH7 de *Haloferax gibbonsii*. H6 es una proteína de 30 KDa obtenida del sobrenadante del cultivo, que conlleva un largo y costoso proceso de purificación. Trabajos posteriores se han centrado en aislar de la cepa anterior un péptido, asociado a la halocina, que contiene toda la actividad inhibidora de ésta sobre el transportador NHE. Este péptido (**PINHE**), es el único inhibidor biológico (proteico) descrito hasta el momento, del intercambiador  $Na^+/H^+$  en eucariotas<sup>36;37;72</sup>. Su purificación es mucho más sencilla y económica que con la halocina de la que deriva. Los trabajos realizados sobre él han permitido la elaboración de una patente<sup>36</sup> y su descripción lo señala como un péptido hidrofóbico de 28 aminoácidos que ejerce una inhibición específica, reversible y dosis-dependiente del intercambiador  $Na^+/H^+$  (NHE) de células de mamífero incluyendo al hombre<sup>37</sup>.

PINHE es la primera molécula de origen natural (procedente de haloarceas) que ejerce actividad inhibitoria sobre el transportador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>, no sólo en procariontas sino también en eucariotas por lo que estaría implicado en diferentes aspectos de la Fisiología y Patología, tales como el reestablecimiento de la homeostasis del pH citosólico cuando tiene lugar una acidificación<sup>7;8</sup>, lesiones debidas a isquemia y reperfusión<sup>14;18;20;38;39</sup>, hipertensión<sup>40</sup>, diabetes<sup>41</sup>, regulación de la homeostasis del volumen celular<sup>42</sup>, etc. PINHE como inhibidor de NHE constituye una novedad frente a los inhibidores descritos hasta la fecha, todos ellos de origen sintético y en distintas fases de investigación ya que por el momento solo amiloride, principio activo de (Ameride<sup>™</sup>) está siendo utilizado, como diurético ahorrador de potasio.

Experimentos preliminares de halocina H6 y PINHE con animales sugieren que PINHE es un buen candidato para prevenir los daños ocasionados por la isquemia-reperfusión. Las principales ventajas que ofrece PINHE respecto al resto de inhibidores del NHE conocidos hasta el momento, se deben a su naturaleza proteica, lo que posibilita su mejora sobre la base de la ingeniería genética y de proteínas. Y además que inhiba específicamente el NHE de células eucariotas, de la misma forma que ya se demostró para las haloarceas<sup>30</sup>, es un hecho realmente sorprendente, ya que es la primera vez que una sustancia del tipo bacteriocina muestra actividad similar frente a células eucariotas y procariontas, lo que abre un nuevo campo de investigación de los productos derivados del Dominio Archaea.

El objetivo final del presente trabajo es demostrar que PINHE péptido derivado de una bacteriocina de haloarceas: (1) inhibe el transportador NHE de células eucariotas, (2) evita la acumulación intracelular de Na<sup>+</sup> y Ca<sup>++</sup> en un modelo de isquemia celular y (3) protege frente al daño de isquemia-reperfusión en un modelo animal de infarto de miocardio.

## Material y Métodos

### 1. CÉLULAS UTILIZADAS

#### 1.1. Archaeas

Se han utilizado *Haloferax gibbonsii* alicante SPH7 (CECT 4547) como cepa productora y *Halobacterium salinarum* NRC 817 como cepa sensible.

#### 1.2. Eucariotas

Se han empleado HEK293 (células de riñón de embriones humanos) ATCC CRL1573; Jurkat (linfocitos T

humanos) ATCC TIB152 (clon E6-1); NIH3T3 (fibroblastos de ratón) ATCC, HL1<sup>43</sup> donadas por el Dr. WC Claycomb (línea celular de músculo cardíaco de ratón). También se han utilizado cultivos primarios de células extraídas de músculo esquelético humano y células sanguíneas de origen humano.

## 2. CULTIVO DE CÉLULAS

### 2.1. Archaeas

El medio utilizado para el cultivo es el denominado SW25 que contiene: 2,66 M ClNa, 0,13 M Cl<sub>2</sub>Mg6H<sub>2</sub>O, 0,16 M SO<sub>4</sub>Mg7H<sub>2</sub>O, 6,64 mM Cl<sub>2</sub>Ca, 53,3 mM ClK, 1,6 mM CO<sub>3</sub>HNa y 4,48 mM BrNa y 0,5% de extracto de levadura. El pH se ajustó a 7,2. El medio se esterilizó en autoclave (121°C, 15 min). Los cultivos se incubaron a 37°C y con aireación durante 5-7 días. Para preparar medio sólido se añadió 2% de agar-agar.

### 2.2. Eucariotas

#### 2.2.1. Líneas celulares

Las células 293HEK se propagaron en medio de cultivo constituido por DMEM conteniendo 4 g/litro de glucosa y 3.7 g/l de bicarbonato sódico y suplementado con 10% FBS, 2 mM L-glutamina, penicilina 100 U/ml, estreptomycin 100 µg/ml, anfotericina 2.5 µg/ml y gentamicina 5 µg/ml. El cultivo se realizó en placas de Ø10 cm a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Las células se cultivaron hasta confluencia, entonces se recolectaron mediante incubación con tripsina 0,12% en EDTA 0,5 mM y centrifugación a 300g durante 10 minutos, el precipitado se resuspendió en medio DMEM sin bicarbonato, conteniendo 10% de FBS y 25 mM de Hepes. Se realizó un recuento del número de células vivas utilizando un hemocitómetro y un colorante vital (Trypan blue dye). La suspensión celular se conservó en hielo hasta el ensayo. El cultivo de células NIH/3T3 se realizó de igual forma que HEK293 pero sustituyendo FBS por 10% de NCS. HL1: Se cultivaron según el protocolo del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular del LSU Health Science Center, School of Medicine de New Orleans. Los cardiomiocitos se cultivaron en medio de Claycomb al que se añadió 10% FBS, 0.1 mM norepinefrina (de una solución en 30 mM de ácido ascórbico), 2 mM L- glutamina, penicilina 100 U/ml y estreptomycin 100 µg/ml. Los frascos de cultivo se recubrieron manteniéndolos doce horas a 37°C con una solución conteniendo 0.02% gelatina y 12.5 µg/ml (2 ml por frasco T25); esta solución de gelatina/fibronectina se vació mediante aspira-

ción antes de la siembra. Se cultivaron a 37°C y 5% CO<sub>2</sub>. El medio se cambió diariamente y se realizaron pasadas (1:3) al alcanzar la confluencia. Se conservaron en congelación a -80°C con isopropanol (95% FBS y 5% DMSO) y a las 12 horas se pasa a N<sub>2</sub> líquido.

### 2.2.2. Músculo humano

El procesamiento de las biopsias de músculo esquelético humano para la separación, cultivo e identificación de células musculares se ha realizado siguiendo los protocolos descritos anteriormente<sup>44,45</sup>. Brevemente, las muestras de tejido muscular se obtuvieron como residuos de donaciones multitejidos, generadas en hospitales debidamente autorizados para dicha actividad y con la mediación de la coordinación de trasplantes hospitalaria correspondiente para la gestión administrativa y funcional de las distintas acciones a realizar.

Desde el momento de la disección y hasta su recepción en el laboratorio, es decir, durante el período de isquemia fría, el tejido se conservó a 4 °C en presencia de solución tamponada de Hank (HBSS) (Gibco BRL) conteniendo: 50 mg/L de tobramicina (tobradistín, Dista), 50 mg/L de vancomicina (diatracín, Dista), 50 mg/L de cotrimoxazol (soltrín, Omega) y 50 mg/L de anfotericina B (fungizona, Squibb). El tejido permaneció en estas condiciones entre 3 y 12 horas, transcurridas las cuales la solución de antibióticos fue sustituida por medio de cultivo M-199 (Gibco BRL), en las mismas condiciones de temperatura y durante un máximo de 24 horas. Como solución para el lavado de las células, se utilizó HBSS con albúmina humana al 4% (Grifols).

El tejido (procedente de biopsias de vasto externo de donantes varones) se sometió a una digestión enzimática. Para ello fue troceado en fragmentos de unos 3 mm<sup>3</sup>. Se procesaron unos 3 g de tejido cada vez. Seguidamente, se añadió HBSS conteniendo tripsina al 0.125% (Gibco BRL) y ácido etilén-diamino-tetracético (EDTA) (Sigma) al 0.02%, a razón de 10 mL/g. El recipiente con los fragmentos de tejido en la solución de disociación se incubó a 37 °C durante 45 min. A continuación, se añadió HBSS con 1mg/ml de soja (Gibco BRL) en proporción 1:1 (v/v) para inhibir la tripsina.

El material digerido fue filtrado a través de una gasa y lavado mediante centrifugación a 115 g, durante 2 min, para eliminar los restos de fibras musculares. Posteriormente el sobrenadante se centrifugó a 300 g durante 10 min y el sedimento obtenido se resuspendió en medio de cultivo y se sembró en placas recubiertas

previamente en el fondo con una solución estéril (121°C, 20 min.) de gelatina de cerdo (0.1%) en agua estéril durante dos horas a temperatura ambiente. Las células se cultivaron en medio de cultivo DMEM con 4 g/litro de glucosa y suplementado con 10% FBS, 2mM L-glutamina, penicilina (100U/ml), estreptomocina (100µg/ml), gentamicina (50µg/ml) y anfotericina (2.5µg/ml). Los cultivos se incubaron a 37°C y 5% CO<sub>2</sub>. El medio de cultivo se reemplazó dos o tres veces por semana y cuando se alcanzó el 60-75% de confluencia se realizaron subcultivos, para ello las células se recolectaron utilizando una solución de tripsina-EDTA como se ha indicado anteriormente. Después de centrifugación (300g, 10 min) e inhibición de la tripsina se lavaron (X2) con medio de cultivo fresco antes de utilizarlas o resembrarlas de nuevo.

Para su análisis citométrico las células, una vez recolectadas de la placa, se lavaron (X2) con PBS y se resuspendieron (5-10x10<sup>6</sup> cel/ml) en solución HHE (0.1% albúmina sérica humana y 5 mM EDTA en HBSS) y se incubó (30 min a temperatura ambiente) con el anticuerpo monoclonal 5.1H11 (1:100) específico de antígenos de superficie de mioblastos humanos (Developmental Studies Hybridoma Bank, Universidad de Iowa). Se lavaron (X3) con HHE y se incubaron (30 min a temperatura ambiente) con anticuerpo secundario anti-ratón conjugado con isotiocianato (FITC). Como control negativo se utilizó un IgG de ratón.

Para el aislamiento de mioblastos de cultivos primarios de músculo humano se utilizó el procedimiento de selección positiva utilizando una técnica inmunomagnética.<sup>44</sup> Se empleó el anticuerpo monoclonal 5,1H11 y bolas paramagnéticas de poliestireno que llevan inmovilizado en su superficie un anticuerpo humano anti-ratón (CELLlection Pan Mouse IgG kit (DynaL, Oslo, Noruega). La suspensión de bolitas (Dynabeads) se mezclaron con el anticuerpo 5.1H11 y se incubaron a RT durante 30 minutos. Los tubos se colocaron en un concentrador de partículas (DynaIMPC) durante 1 min se separa el sobrenadante y se lavan las bolitas con el 5.1H11 fijado con HHE (X3). Se prepara, paralelamente, una suspensión celular (10-40x10<sup>6</sup> cel/ml). La suspensión y el complejo Dynabeads-5.1H11 se mezclan y se incuban a 4°C durante 15 minutos. Se mantiene el tubo en el concentrador y se lava (X2) con HHE. El complejo se rompe utilizando una solución de DNAsa e incubando 15 min a 37°C con agitación. El sobrenadante conteniendo las células se recupera con pipeta y se utiliza y/o siembra.

### 3. MEDIDA CITOMÉTRICA DEL PH INTRACELULAR EN CÉLULAS EUCARIOTAS

El análisis cinético del pH<sub>i</sub> y sus variaciones se realizó por citometría de flujo usando el fluorocromo BCECF-AM. Tal como se ha reseñado anteriormente <sup>46</sup>. Se diseñó un protocolo de adquisición de datos en el citómetro de flujo que recogió las señales de dispersión frontal (FS) y lateral (SS) de láser y las emisiones de fluorescencia verde (FL1) y naranja (FL3). Se estableció una representación biparamétrica de FS frente a SS para acotar la población de células vivas (mayor FS y menor SS). Se establecieron histogramas monoparamétricos de FL1, FL3 y de cociente FL3/FL1 y una representación de cociente FL3/FL1 frente al tiempo (tiempo final: 300 segundos). En esta última gráfica se delimitaron regiones de análisis estadístico sobre el eje de tiempos que abarquen la totalidad del eje del cociente. Los tubos para el análisis contenían: 100000 células a analizar de las eucariotas empleadas en el trabajo, 2 µl de BCECF-AM de una solución de 1 mg/ml en DMSO, la cantidad adecuada del inhibidor o control correspondiente y se completó hasta 1 ml con DMEM sin bicarbonato, HEPES y FBS. Se incubó a 37°C durante 15 minutos y en oscuridad.

La solución DMEM utilizada estaba exenta de bicarbonato, tenía 10% de FBS y estaba tamponada con Hepes conteniendo: glucosa 1 gr/L, piruvato sódico 110 mg/L, ClNa 140mM, ClK 2.6mM, PO<sub>4</sub>HK<sub>2</sub> 1.2mM, SO<sub>4</sub>Mg 1.2mM, Cl<sub>2</sub>Ca 1.0mM y Hepes 25mM ajustándose el pH a 7.4.

Terminada la incubación se introduce la suspensión de células en el citómetro de flujo y se inicia la adquisición de datos para recoger la línea base de fluorescencia durante 10-15 segundos. En los ensayos que precisan acidificación, esta se consigue interrumpiendo la adquisición de datos para añadir un pulso de propiónico al tubo de la muestra, se añadieron 50-100 µl de una solución 1 M de propionato sódico para obtener la acidificación del citoplasma deseada. Se reanuda la adquisición de datos hasta alcanzar el final del tiempo experimental.

En las experiencias realizadas con células de músculo esquelético y que se empleó un anticuerpo secundario conjugado con FITC como cromóforo y para determinar simultáneamente las células positivas al anticuerpo 5.1H11 y el pH intracelular se sustituyó el cromóforo BCECF-AM por carboxi-SNARF-1 AM 2 mM capturando la fluorescencia emitida en los canales FL2 y FL3 y determinando el cociente FL3/FL2 de forma similar a como se

ha realizado para el BCECF, mientras que la emisión de fluorescencia debida a FITC se recogió en el canal verde FL1.

Para cada tipo de células se estableció la relación entre el cociente de los canales de fluorescencia FL3/FL1 para BCECF-AM y los valores de pH<sub>i</sub>. Para ello se incubó las células en el medio descrito anteriormente pero tamponados a diferentes pH y en presencia de 2 µg/ml de nigericina. En el caso de utilizar SNARF fue el cociente FL3/FL2 el que se relacionó con el pH<sub>i</sub>.

### 4. MEDIDA DE LA VELOCIDAD INICIAL DE RECUPERACIÓN DEL PH<sub>I</sub>

Se realizó de acuerdo al método citométrico de medida de la actividad de NHE como hemos descrito anteriormente <sup>46</sup>. Brevemente la adquisición de datos del citómetro permite establecer una relación entre los valores del cociente FL3/FL1 (o en su caso FL3/FL2) en función del tiempo de la experiencia. Un ajuste matemático permite establecer una ecuación en función del tiempo del citado cociente cuyo valor de la derivada a tiempo cero nos permitió establecer la velocidad inicial de aumento del cociente. A partir de la relación cociente con pH<sub>i</sub> se ha calculado la velocidad inicial de recuperación del pH<sub>i</sub> y se define como actividad de NHE <sup>46</sup>.

### 5. REVERSIBILIDAD DE ACCIÓN DE PINHE

El ensayo para determinar la reversibilidad del efecto de PINHE sobre NHE se realizó determinando la velocidad inicial de recuperación del pH<sub>i</sub> sobre cultivos celulares. Las células se dividieron en tres grupos para su análisis citométrico. En el primero (control) las células se incubaron 15 minutos en el medio de ensayo en ausencia de PINHE y los otros dos en presencia de 1000 U/ml. Previo a la determinación de la velocidad inicial de recuperación del pH<sub>i</sub>, el grupo tres se centrifugó a 300g 10 minutos y el precipitado se resuspendió en 5 ml de medio sin inhibidor y se dejó equilibrar incubando a 37°C durante 30 minutos, la operación se repitió 3 veces. Al finalizar, las células lavadas se resuspendieron en 1 ml de la solución de ensayo sin PINHE y se procedió a determinar su velocidad de recuperación del pH<sub>i</sub> como se ha descrito anteriormente.

### 6. MEDIDA DE NA<sup>+</sup> INTRACELULAR

La medida de la concentración de Na<sup>+</sup> intracelular se realizó citométricamente utilizando el indicador

fluorométrico Sodium Green en su forma tetra-acetato (permeable a células). El vial de reacción contenía 100000 células, 4  $\mu\text{M}$  de Sodium Green (10  $\mu\text{l}$  de una solución 0.4 mM en DMSO) y DMEM sin bicarbonato sódico y 5.6 mM glucosa en 1 ml. Se incubó a 37°C durante un tiempo de 30 minutos que fue previamente determinado experimentalmente para las células ensayadas. La fluorescencia debida al Sodium Green se recogió en el canal de fluorescencia verde (FL1) del citómetro.

Para establecer la relación entre la fluorescencia y la concentración de sodio las células se incubaron con sodium green durante 30 minutos en una solución que contenía: 1 mM  $\text{Cl}_2\text{Ca}$ , 5.3 mM  $\text{ClK}$ , 1.2 mM de  $\text{SO}_4\text{Mg}$  anhidro, 10 mM glucosa, 25 mM HEPES y 5% BSA ajustado con tampón TRIS a 7.4. Se añadió  $\text{ClNa}$  1M para alcanzar las concentraciones de  $\text{Na}^+$  requeridas en el ensayo (0-50 mM) y 10  $\mu\text{M}$  de gramicidina (10  $\mu\text{l}$  de una solución 10 mM en etanol absoluto). Se continuó la incubación durante 30 minutos más. Terminada la incubación se paró la reacción introduciendo los tubos en hielo y se añadió 2  $\mu\text{g}$  de yoduro de propidio antes de su lectura en el citómetro.

## 7. MEDIDA DEL $\text{Ca}^{++}$ INTRACELULAR

Se realizó mediante citometría de flujo utilizando el fluorocromo Fluo-3-AM. El vial de reacción contenía: 100000 células,  $\mu\text{M}$  Fluo-3-AM (2 $\mu\text{l}$  de una solución 1 mM en DMSO), 5.6 mM glucosa y DMEM sin bicarbonato hasta 1 ml. La fluorescencia debida a Fluo-3-AM se recogió en el canal de fluorescencia verde del citómetro (FL1). La medida del pH intracelular se realizó simultáneamente con la medida de  $\text{Ca}^{+2}$  utilizando 2 mM del fluorocromo SNARF, calculando el cociente de fluorescencia FL3/FL2 como se ha descrito anteriormente como medida del pH<sub>i</sub>. En algunas experiencias se han incubado las células durante 30 min. a 37°C con 150 nM de Tapsigargina y 5 minutos con 4  $\mu\text{M}$  Rianodina.

## 8. MODELO ANIMAL DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

Se realizaron experimentos in vivo utilizando un modelo de isquemia-reperfusión en perros basado en la oclusión de la arteria coronaria.

Todos los estudios se realizaron sobre la base de los acuerdos de la Convención Europea de Estrasburgo de 18/06/1986. Los perros (15-25 Kg) se dividieron aleatoriamente en dos grupos (ocho animales cada uno),

uno recibió suero salino (grupo control) y el otro el inhibidor disuelto en salino. La cantidad total de inhibidor (4170 AU  $\text{Kg}^{-1}$ ) se disolvió en 2 ml de suero salino. Se cateterizó la femoral izquierda y a través de ella se introduce el suero y el inhibidor administrándolo durante 2 min. antes de la oclusión seguido de cuatro dosis (1043 AU  $\text{Kg}^{-1}$ ) a intervalos de 15 min. Se anestesiaron con 25 mg  $\text{Kg}^{-1}$  (i.v.) sodium thiopental (Pentothal®, Abbott) y se dieron dosis adicionales según necesidades.

Se intubaron y se ventilaron con aire (Respirator system 3000, Engström, Sweden). Se monitorizó la presión arterial media (Spectramed Statham P23XL transducer) y el ECG (lead I, II, III, and  $\text{V}_2$ ) conectando electrodos y transductores a un Grass 7F polygraph (Grass Instruments, Quincy, MA, USA).

Se consideró un latido ventricular prematuro todo complejo ventricular no precedido de una onda-P incluyendo no solo latidos ectópicos sino aquellos que aparecían dentro de una taquicardia ventricular.

El acceso a miocardio se realizó mediante toracotomía lateral (quinta costilla intercostal). Se ligó la rama izquierda de la arteria coronaria descendente durante 2 h (isquemia) y después de 3h de reperfusión el animal se sacrificó con una sobredosis de tiopental. Se extrajo el corazón y se analizó la zona de riesgo y tamaño del infarto mediante el uso de azul de metileno y N-azul tetrazolium según se ha descrito anteriormente <sup>42</sup>. Las porciones de miocardio no teñidas se diseccionaron, se pesaron y el tamaño del infarto se calculó como porcentaje de la región de riesgo o como la masa del ventrículo izquierdo.

## Resultados y Discusión

Las haloarqueas son microorganismos halófilos extremos. Su hábitat natural lo constituyen medios con elevadas concentraciones de sales. Estos microorganismos, tan sencillos en su organización celular como las bacterias, están incluidos en el Dominio Archaea y han evolucionado paralela e independientemente del resto de seres vivos, lo que supone importantes diferencias en la composición química, genética y capacidades biosintéticas y metabólicas con respecto a los otros dos dominios Bacteria y Eucarya. A partir del sobrenadante del cultivo de la haloarquea *Haloferox gibbonsii* Ma 23.39 se obtiene la halocina H6 que inhibe específicamente el intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  de haloarqueas sensibles como *Halobacterium salinarum*. Este

intercambiador es vital para estas células que viven en ambientes hipersalinos y lo precisan para mantener la homeostasis del Na<sup>+</sup>. Una purificación del sobrenadante del citado cultivo de *H. gibbonssi* sobre la base de la precipitación con acetona y purificación con FPLC en fase reversa con gradiente de acetonitrilo, permite purificar un péptido que conserva toda la actividad de H6<sup>37</sup>. Este péptido, denominado PINHE, se le ha determinado, mediante espectrometría de masas, un peso molecular de 2732 Da y está formado por 28 aminoácidos con la siguiente secuencia: N-Ser Trp Ile Asp Ser Ala Ser Thr Ala Ala Leu Gly Thr Asn Pro Val Thr Met Ser Ala Pro Gly Gly Thr Val Asn Ile Asp-C. Se trata de un péptido hidrófobo y termorresistente, soporta rangos amplios de pH (5-9), su actividad es independiente de la concentración salina y es sensible a pronasa y resistente a tripsina<sup>37</sup>.

## 1. REVERSIBILIDAD

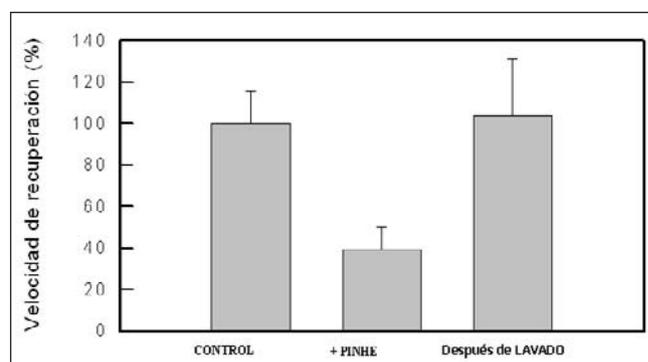
Para demostrar si la inhibición de PINHE sobre el intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> es reversible nos basamos en el efecto que sobre NHE unido al inhibidor, complejo NHE-PINHE, tendría el hecho de eliminar el inhibidor no ligado al NHE. Eliminando el PINHE (no ligado) de la suspensión celular, sustituyendo el medio de incubación con PINHE por otro exento del mismo y dejando equilibrar, si fuera reversible, cabría esperar que el PINHE ligado al NHE se soltara y pasara a la solución hasta alcanzar un nuevo equilibrio entre PINHE ligado al NHE y PINHE libre en suspensión. Si la dilución es suficiente (repetiendo este lavado y re-equilibrando las veces necesarias con una solución exenta del inhibidor) podríamos esperar que la velocidad de recuperación del pH intracelular, después de la acidificación del medio, se restableciera a valores próximos a la actividad del NHE sin el inhibidor (control).

La experiencia se llevó a cabo utilizando células NIH3T3. Las condiciones del ensayo fueron las del modelo de ensayo descrito en Material y Métodos. Las células se dividieron en tres grupos. En el grupo 1 las células se incubaron en el medio de ensayo sin la presencia de PINHE (control) y los otros dos grupos (grupo 2 y 3) se incubaron en presencia de PINHE (1000 U/ml). Después de la incubación, las células del grupo 3 se centrifugaron (250g, 10 min.) y se lavaron con cinco veces su volumen de medio sin PINHE y dejando equilibrar posteriormente durante 30 minutos. El procedimiento de dilución-lavado se repite tres veces y al finalizar, las células lavadas se resuspenden en 1 ml.

de la solución de ensayo (sin PINHE), se acidifica y se sigue la evolución del pH intracelular según nuestro protocolo, determinándose a continuación la velocidad inicial de recuperación del pH intracelular.

En la figura 1 se resume el resultado del experimento. Se representa el valor medio de la velocidad de recuperación del pH intracelular inicial (referida al control) para los tres grupos de células según el protocolo de ensayo. Se observa que la incubación con 1000U/ml de PINHE (grupo 2) produjo una inhibición del 40% de dicha velocidad al compararla con el 100% para el control (grupo 1), pero después del lavado-dilución del PINHE presente, observamos que la velocidad de recuperación del pH citosólico alcanza valores similares a los del control. Esta igualdad entre los grupos 1 y 3 contrasta con la inhibición significativa ( $P < 0.01$ ) que se produce en presencia de PINHE (grupo 2) y pone de manifiesto el carácter reversible de la acción del PINHE como inhibidor del intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>.

**Figura 1.** Reversibilidad de la inhibición del PINHE sobre el intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> de células NIH/3T3. (Control): Células incubadas en el medio de ensayo; (+PINHE) células incubadas en presencia de 1000 U/ml de PINHE; (Después de lavado): Las células incubadas con PINHE se sometieron a distintos lavados e incubaciones para eliminar la presencia del inhibidor. Los valores son media  $\pm$  intervalo de confianza al 99%.



## 2. INHIBICIÓN DE NHE

En este momento y después de los resultados de las experiencias realizadas hasta ahora, conocemos que PINHE es un inhibidor específico del intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> de células eucariotas. En las experiencias siguientes se determina el papel que la concentración de PINHE juega en la inhibición de la actividad de NHE y permitirá establecer valores de la concentración que produce el 50% (IC<sub>50</sub>) de la actividad del intercambiador. Los ensayos se han realizado con tres tipos de líneas celulares: fibroblastos de ratón NIH3T3, células

renales de embrión humano HEK293 y cardiomiocitos de ratón HL1.

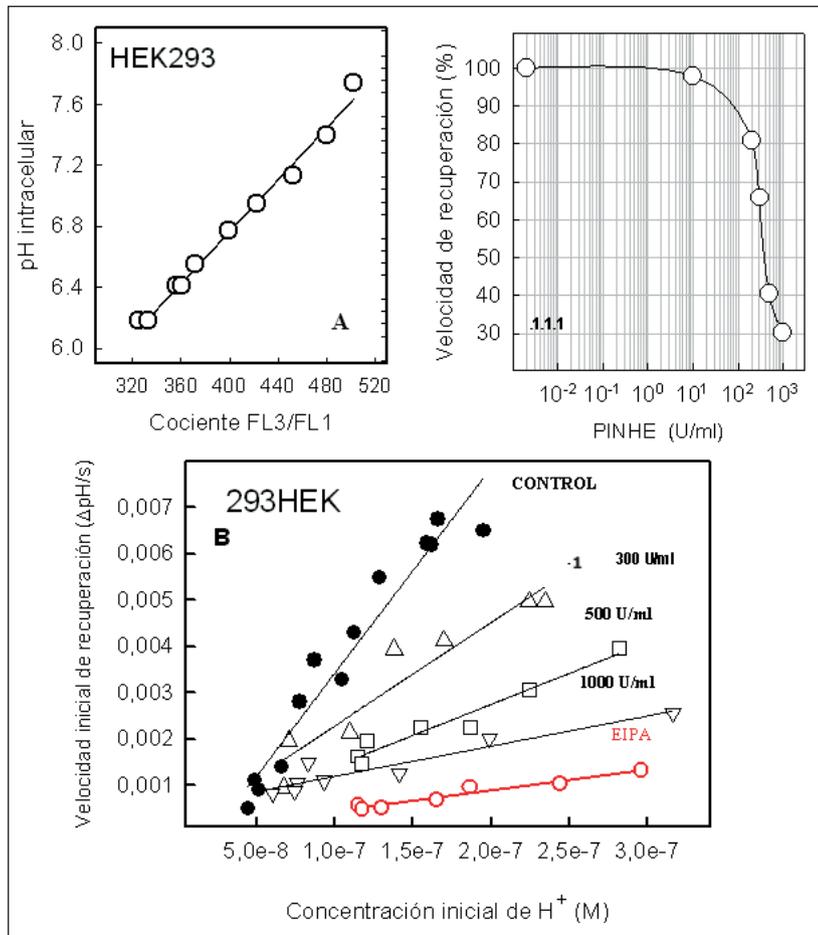
Los resultados de las experiencias con HEK293 se reseñan en la figura 2. La relación lineal que existe entre los valores del cociente de la lectura citométrica y el valor del pH<sub>i</sub> determinado tal como se describe en Material y Métodos se representa en la Figura 2A. Los resultados de la velocidad inicial de recuperación de pH<sub>i</sub> frente a la concentración de protones intracelulares (figura 2B) presenta una relación que aumenta linealmente con la acidificación inicial del citoplasma. Además, la presencia de PINHE, supone una reducción de la velocidad de recuperación de pH<sub>i</sub>. Esta reducción es dosis dependiente, como se puede apreciar en la figura 2C que presenta la típica forma sigmoidea de este tipo de relaciones. En ella se ha representado el porcentaje de la velocidad inicial de recuperación frente a la concen-

tración de PINHE para una determinada acidificación del citoplasma (en este caso 6.8) de la que se puede deducir un valor de IC<sub>50</sub> de aproximadamente 400 U.A./ml.. El valor de IC<sub>50</sub> calculado para otros pH<sub>i</sub> no presenta diferencias ( $P < 0.43$ ) por lo que se podría estimar un valor medio para el IC<sub>50</sub> del PINHE de 4.8  $\mu\text{M}$  para HEK293.

En las experiencias se ha llevado un control positivo de la inhibición de NHE como es etil-isopropil-amiloride (EIPA). A la concentración utilizada, 3  $\mu\text{M}$ , presenta una inhibición notable en todo el rango de pH<sub>i</sub> estudiado. Esta inhibición refuerza los resultados que como inhibidor dosis dependiente presenta PINHE (Tabla 1).

Se ha realizado un estudio similar de la dependencia que la inhibición tiene con la concentración de PINHE para la línea celular de fibroblastos de ratón NIH3T3 (Figura 3). Los datos presentan una similitud muy gran-

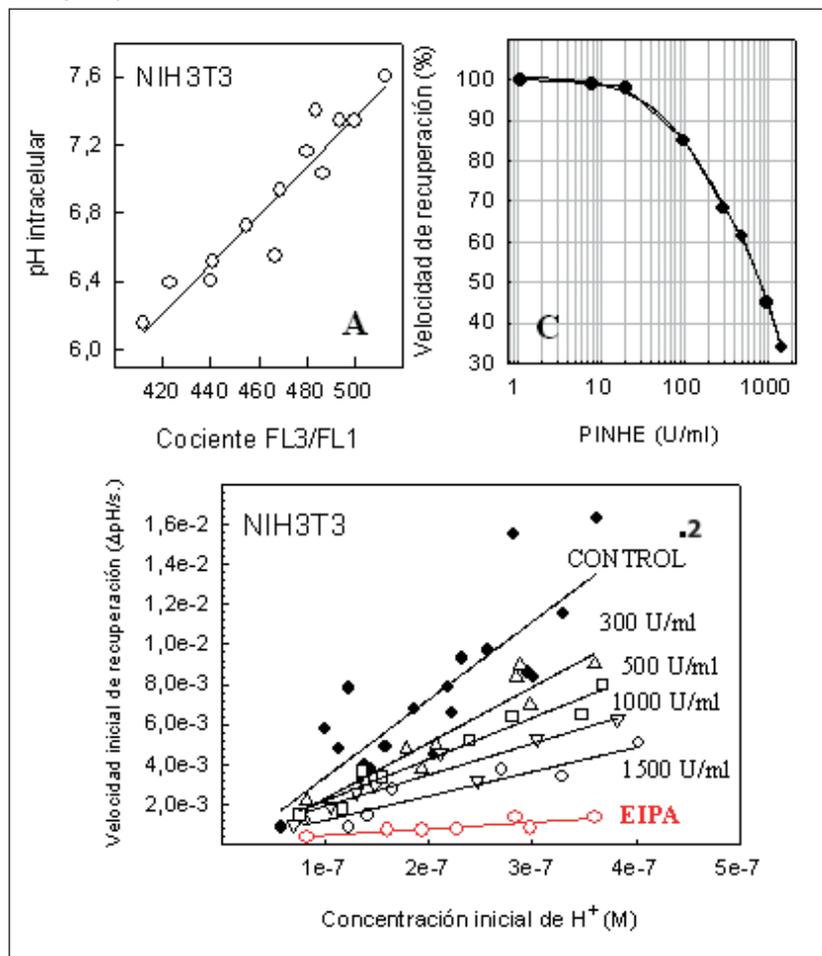
**Figura 2.** Inhibición por PINHE de la actividad de NHE de células HEK293: (A) Calibrado del pH<sub>i</sub> en función del cociente de fluorescencia FL3/FL1 de la lectura citométrica de BCECF; (B) Velocidad inicial de recuperación de pH<sub>i</sub> en función de la concentración de H<sup>+</sup> intracelular en presencia de: 0 (Control), 300, 500 y 1000 U.A./ml de PINHE y EIPA 3  $\mu\text{M}$ ; (C) Velocidad de recuperación (respecto al control, 100%) del pH<sub>i</sub> en función de la concentración de PINHE.



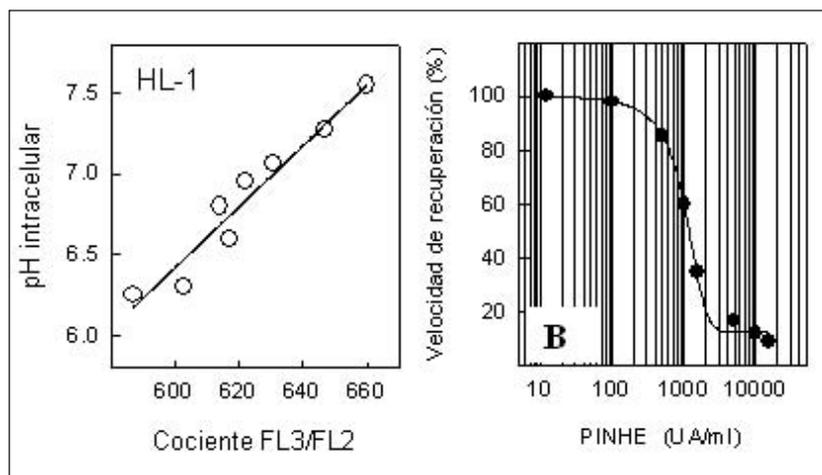
de con las obtenidas para HEK293 (Figura 2). La actividad del intercambiador, respecto a la concentración de H<sup>+</sup>, es muy similar en unas u otras células, así, para un pH<sub>i</sub> de 6.7 resultan, para el control, unas velocidades iniciales de recuperación de  $7.7 \times 10^{-3}$  DpH/s para NIH3T3 y de  $7.9 \times 10^{-3}$  DpH/s para HEK293. Aunque la inhibición por PINHE resulta bastante similar los valores de IC<sub>50</sub> que se obtienen para estas últimas son mas altos (800 U.A./ml) y equivale a un IC<sub>50</sub> de 9.5  $\mu\text{M}$  para NIH3T3 (Tabla 1).

La línea celular HL-1 derivó de la línea tumoral AT1 de cardiomiocitos auriculares de ratón<sup>48</sup>. Se puede crecer bien y conserva propiedades morfológicas, bioquímicas y electrofísicas de las células cardíacas. Presentan características ultraestructurales de las células embrionarias del músculo cardíaco. Expresan genes característicos de los miocitos auriculares de adulto, como a-miosina de cadena pesada, a-actina y conexina43, así como el factor natriurético auricular. Del análisis inmunohistoquímico se desprende que la distribución de los marcadores específicos cardíacos (desmina, miosina sarcomérica y factor natriurético auricular) es igual a los cardiomiocitos en cultivo. En definitiva, las células HL-1 son una línea celular de miocitos cardíacos que soportan bien muchos pases de cultivo conservando fenotipos específicos cardíacos<sup>48</sup>.

**Figura 3.** Inhibición por PINHE de la actividad de NHE de células NIH3T3: (A) Calibrado del pHi en función del cociente de fluorescencia FL3/FL1 de la lectura citométrica de BCECF; (B) Velocidad inicial de recuperación de pHi en función de la concentración de H<sup>+</sup> intracelular en presencia de: 0 (Control), 300, 500, 1000 y 1500 U.A./ml de PINHE y EIPA 3 μM; (C) Velocidad de recuperación (respecto al control, 100%) del pHi en función de la concentración de PINHE.



**Figura 4.** Inhibición por PINHE de la actividad de NHE en células HL1. (A): Calibrado del pHi en función del cociente de fluorescencia FL3/FL2 de la lectura citométrica de SNARF; (B): Velocidad de recuperación de pHi (respecto al control, 100%) en función de la concentración de PINHE.



**Tabla 1.** Valores obtenidos de IC50 de inhibición de PINHE en las líneas celulares ensayadas.

Linea celular	IC50 (μM)
HEK293	4.8
NIH3T3	9.5
HL-1	13

En la Tabla 1 y Figura 4 se muestra los resultados de la inhibición del PINHE sobre células HL-1 sometidas al modelo experimental de acidificación. En este caso, para la medida de pHi, se ha utilizado el cromóforo SNARF con lo que se deja el canal de fluorescencia verde para otro cromóforo (ver más adelante en la determinación de Ca<sup>++</sup>) a pesar de que la sensibilidad de SNARF es menor que BCECF para la medida de pHi. El análisis de la inhibición de PINHE sobre la línea celular HL-1 se resume en la Tabla 1 con un valor de IC50 de 1100 U.A./ml con lo que se podría estimar el IC50 en 13μM.

La actividad de los inhibidores de NHE varía en gran forma, tanto con el tipo de células como con los parámetros que se utilizan para conocer la actividad del transportador, como queda reflejado en múltiples publicaciones. Así, por ejemplo, midiendo la entrada de Na<sup>+</sup> en hepatocitos de rata, Renner y col. obtenían valores de IC50 para Amiloride, DMA y EIPA de 3, 0.5 y 0.1 mM respectivamente<sup>49</sup>. La recuperación de pHi en colonocitos de pollo era inhibida por EIPA con IC50 0.18mM<sup>49</sup>. En miocardio de rata, la recuperación de pHi era inhibida por EIPA o SM15691 con un IC50 de 80 nM<sup>46</sup>. La entrada de Na<sup>+</sup> debida a NHE de plaquetas de rata era inhibida por EIPA y HOE694 con un IC50 de 0.1 μM, mientras que en eritrocitos de conejo HOE 694 lo hacía con un IC50 de 0.8 mM y en células endoteliales de aorta bovina lo hacía con IC50 de 0.1 mM, todas ellas comparable a EIPA<sup>14</sup>.

Los resultados de inhibición del intercambiador NHE por PINHE, pone de manifiesto dos cosas: (i) la inhibición dosis-dependiente de PINHE respecto a la actividad de NHE y (ii) la capacidad de inhibir NHE de todas las células ensayadas. El hecho de ensayar

con células de riñón (HEK293) y del músculo cardíaco (HL-1) nos lleva a la consideración de la acción de PINHE sobre las distintas isoformas de NHE. Las células cardíacas tienen una proporción abundante de isoformas NHE1<sup>13;52;53</sup>, mientras que las renales la tienen de NHE3<sup>54-56</sup>. Podemos deducir que PINHE tiene capacidad de inhibir ambas isoformas. La falta de anticuerpos específicos para las isoformas de NHE ha postergado el estudio de la especificidad de inhibición sobre las distintas isoformas.

### 3. SODIO INTRACELULAR

En la mayoría de las células la concentración de Na<sup>+</sup> intracelular está regulada. La concentración en células en reposo oscila en el rango 5-20 mM mientras en los fluidos extracelulares es muy superior (>100 mM).

La entrada de Na<sup>+</sup> en la célula genera un potencial de membrana negativo a través de la misma lo que origina un gradiente electroquímico. Dicho gradiente de Na<sup>+</sup> lo mantiene la bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> (NKE) que utiliza la energía derivada de la hidrólisis de ATP y que intercambia el Na<sup>+</sup> intracelular con K<sup>+</sup> extracelular (3:2). Este gradiente electroquímico generado debido al gradiente de Na<sup>+</sup>, lo utiliza la célula: (i) para acoplar el transporte de sodio al flujo a través de la membrana de solutos no favorables a ello, como, por ejemplo, nutrientes (azúcares o aminoácidos) o neurotransmisores, (ii) para la salida de H<sup>+</sup> vía intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> (NHE) (1:1) o (iii) el transporte de Ca<sup>++</sup> a través del intercambiador Ca<sup>++</sup>/Na<sup>+</sup> (NCE) (1:3).

Por todo ello, la concentración de Na<sup>+</sup> intracelular puede variar como consecuencia de muchas condiciones fisiológicas o fisiopatológicas y dado el papel que desempeña el gradiente de sodio, dichos cambios pueden acarrear diversas consecuencias fisiológicas. Un ejemplo claro lo constituye la isquemia, hipoxia severa u otras patologías que cursan con una acidificación del citoplasma y una falta de energía en la célula. En estas condiciones el intercambiador NHE se activa y extrae H<sup>+</sup> del interior introduciendo, fruto del intercambio, Na<sup>+</sup>. Es precisamente la acumulación de Na<sup>+</sup> en el citoplasma lo que inicia la cascada de efectos desfavorables, de ahí el papel beneficioso, cardioprotector, que ejerce la inhibición de NHE<sup>18;57</sup>.

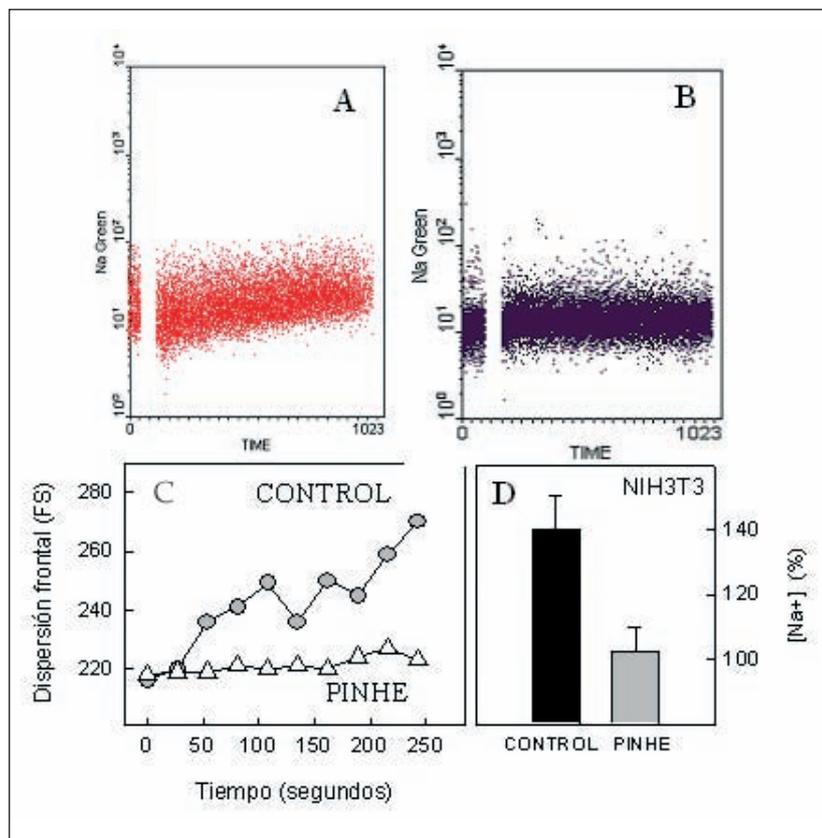
El efecto de la inhibición de NHE por PINHE sobre el Na<sup>+</sup> citosólico se analizó midiendo la concentración de Na<sup>+</sup> intracelular y su evolución tras la acidificación. El empleo de cromóforos fluorescentes sensibles a Na<sup>+</sup>

permite la monitorización del, Na<sup>+</sup> intracelular de forma no invasiva y conservando la funcionalidad celular. Este se ha medido mediante el empleo de Sodium-Green, que es permeable a la membrana celular y se une a Na<sup>+</sup> excitándose con luz visible y emitiendo fluorescencia en el canal verde. Presenta una afinidad más alta respecto a Na<sup>+</sup> que frente a K<sup>+</sup>.

La intensidad de fluorescencia de Sodium-Green aumenta con la concentración de Na<sup>+</sup>. Dentro del modelo experimental se establece un protocolo para su medida y monitorización. Las células se incuban con el fluorocromo y luego se analiza su fluorescencia en el citómetro. Para realizar el calibrado, se utilizaron células NIH3T3, tras incubación de las células a 37°C con Sodium-Green, tras penetrar en las células a través de la membrana se observa la emisión de fluorescencia al unirse con Na<sup>+</sup>. Dado que Sodium-Green se encuentra en exceso (4 µM) respecto a Na<sup>+</sup>, el máximo que alcanza la curva establece el tiempo mínimo de incubación que garantiza suficiente reactivo. En el intervalo estudiado la intensidad de fluorescencia debida a Sodium-Green es lineal respecto a la concentración de Na<sup>+</sup> intracelular. Se comprobó utilizando gramicidina como ionóforo. Las células se incubaron durante 30 minutos con Sodium-Green para que penetre en la célula y entonces se añadió gramicidina hasta 10 µM que permite la entrada de Na<sup>+</sup> en la célula hasta equilibrar la concentración de Na<sup>+</sup> intra y extracelular lo que permite relacionar la medida de fluorescencia con la concentración de sodio.

En la figura 5 se reseña los resultados obtenidos de la evolución del Na<sup>+</sup> intracelular que resultan de aplicar el modelo experimental a células NIH3T3. Cuando se produce la acidificación se inicia un aumento del Na<sup>+</sup> que sigue una cinética parecida a la que hemos visto anteriormente con el pHi. El efecto del PINHE sobre la entrada de sodio se pone de manifiesto al comparar la figura 5A y 5B. En la primera, la activación de NHE debida a la acidificación se corresponde con un aumento de Na<sup>+</sup> con el tiempo, mientras que la presencia de 1000 U.A./ml de PINHE resulta en una variación mínima de la concentración del mismo (figura 5B). Los resultados medios de las experiencias realizadas (figura 5D) indican que a los cuatro minutos después de la acidificación las células controles han experimentado un aumento de la concentración hasta un valor de 140% respecto del valor basal (100%), pero la presencia del inhibidor PINHE hace que las células no experimenten variación. Esta diferencia (P<0.05) pone de

**Figura 5.** Evolución en el tiempo del Na<sup>+</sup> intracelular después de acidificación, según modelo experimental, de células NIH3T3 en ausencia (A) (control) y presencia de 1000 U.A./ml de PINHE (B). Variación de la dispersión frontal (FS) de NIH/3T3 (C) y valores medios respecto al valor inicial (100%) del Na<sup>+</sup> intracelular a los cuatro minutos después de la acidificación (D) (media  $\pm$  intervalo de confianza al 95%).



manifiesto un efecto protector de PINHE respecto del efecto perjudicial que la entrada brusca de Na<sup>+</sup> puede tener a nivel celular. Además, la concentración de Na<sup>+</sup> intracelular modifica algunas propiedades físicas de las células, así se aprecia en la figura 5C, donde tras la acidificación se observa un aumento de FS de reflejaría un aumento de volumen que está linealmente relacionado con la entrada de Na<sup>+</sup> en la célula y la consiguiente entrada de agua.; la presencia de PINHE hace permanecer la célula sin variación en FS lo que confirma lo observado para sodio.

En la figura 6 se representa la evolución del Na<sup>+</sup> intracelular después de la acidificación en mioblastos de músculo humano. Estas células se separaron de cultivos primarios de biopsia de músculo humano mediante el método inmunomagnético, con el empleo del anticuerpo monoclonal 5.1H11, tal como se ha descrito en Material y Métodos. Esta separación aísla mioblastos de otras células presentes en el músculo <sup>44</sup>. Los resultados están en la línea de los descritos para NIH3T3.

aunque menos acentuados (figura 6 A y B). En la figura 6C se muestra la evolución del Na<sup>+</sup> intracelular después de la acidificación y a lo largo de los cuatro minutos de experiencia. Como se aprecia la presencia de PINHE (1000 U.A./ml) evita el la entrada de Na<sup>+</sup> al interior celular. A los cuatro minutos el PINHE ha evitado el aumento del Na<sup>+</sup> intracelular a diferencia del control (figura 6D) donde se aprecia un incremento del 115 % respecto al control y PINHE (100%) (P<0.05).

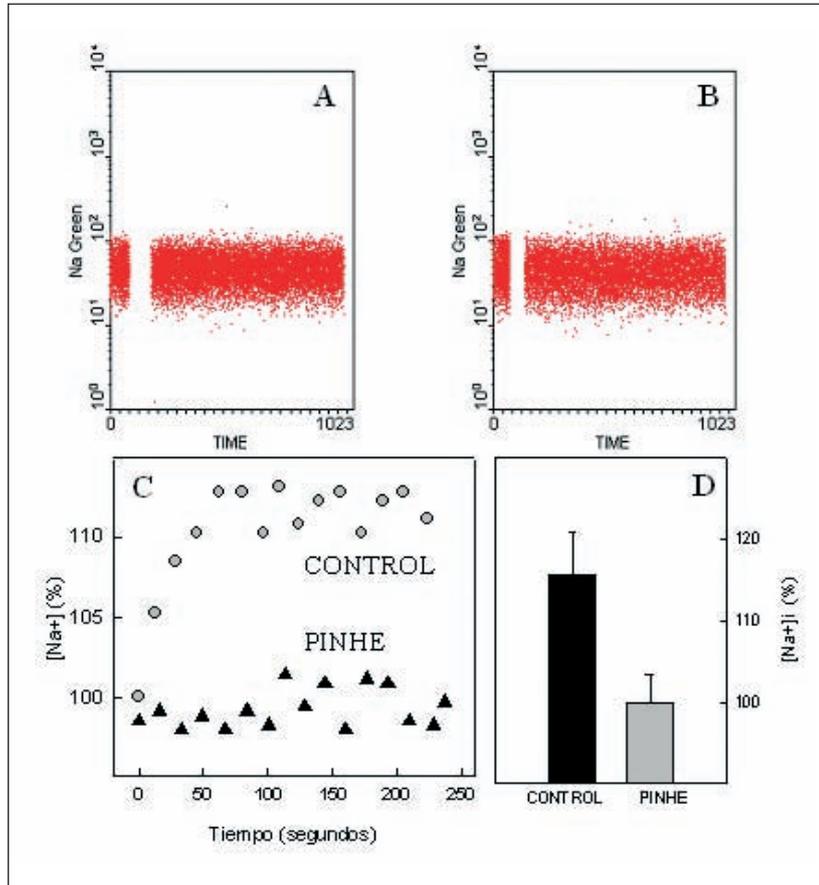
#### 4. CALCIO INTRACELULAR

Es evidente que los iones Na<sup>+</sup> y Ca<sup>++</sup> juegan un papel importante como moduladores, tanto de forma individual como interrelacionados de tal manera que variaciones en uno alteran al otro <sup>58</sup>. Las variaciones en la concentración de calcio se deben a: (i) la entrada y salida de calcio a través del sarcolema y/o (ii) la entrada o liberación del mismo en los almacenes intracelulares. Desde un punto de vista general las alteración del pH puede afectar dichos cambios y consecuentemente la actividad de muchas proteínas incluyendo bombas, canales, receptores y enzimas así como la actividad de muchos productos.

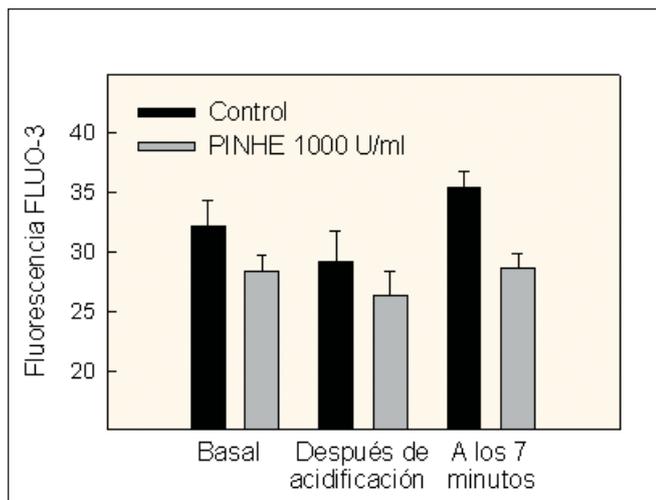
El posible efecto de PINHE sobre la variación de la concentración de calcio intracelular se estudió mediante técnicas citométricas. Se empleó el fluorocromo Fluo-3-AM. Es un indicador fluorescente de los niveles de Ca<sup>++</sup> intracelular. Fluo3-AM atraviesa la membrana, gracias a su estructura -éster AM- en donde las esterasas lo hidrolizan liberando fluo-3 que no es fluorescente hasta que se asocia con Ca<sup>++</sup>. En nuestros experimentos hemos bloqueado las entradas de Ca<sup>++</sup> a los reservorios intracelulares del mismo mediante la presencia de 150 nM de tapsigargina y 50 $\mu$ M de rianodina, quedando inhibidos tanto la ATPasa como los canales de Ca<sup>++</sup> <sup>59-61</sup>.

En la figura 7 se muestra el efecto del PINHE sobre el contenido de Ca<sup>++</sup> intracelular de cardiomiocitos de ratón de la línea HL-1. Los resultados muestran un valor inferior de calcio en los ensayos en donde PINHE está presente. A nivel basal dicho valor ya es inferior en el caso de incubación con PINHE (1000 U.A./ml) Ello indica una ligera protección que se manifiesta claramen-

**Figura 6.** Efecto de la incubación de mioblastos (5.1H11 +) de músculo humano con PINHE sobre la evolución de Na<sup>+</sup> intracelular después de acidificación citoplasmática. Evolución de Sodium-Green en el citómetro de control (A) y con 1000 U.A./ml de PINHE (B). Ejemplo de la evolución de Na<sup>+</sup> durante la experiencia (C) y diferencias medias a los cuatro minutos después de la acidificación respecto al valor inicial (100%) (D) (media ± intervalo de confianza al 95%).



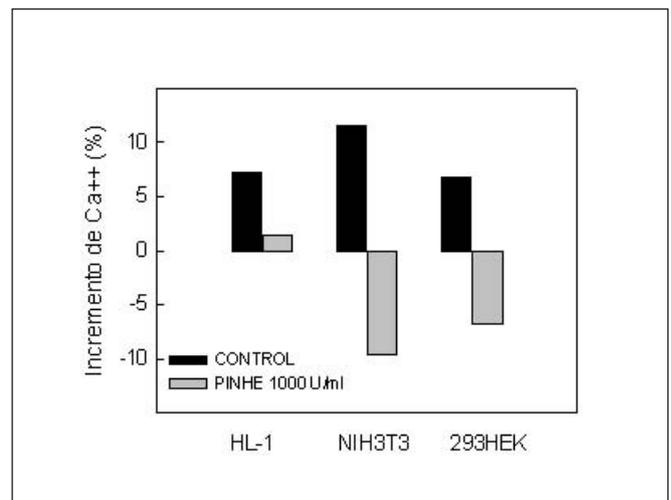
**Figura 7.** Influencia de la presencia de PINHE en la evolución de la fluorescencia debida al Ca<sup>++</sup> intracelular en el modelo de ensayo sobre cardiomiocitos HL-1. Los valores son media ± intervalo de confianza al 95%.



te a los 7 minutos con una subida del control cuya diferencia con las células incubadas con PINHE es significativa ( $P < 0.05$ ). El origen de este calcio puede ser la acción del intercambiador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>++</sup> (NCE) en su forma inversa, esto es sacando Na<sup>+</sup> e introduciendo Ca<sup>++</sup>. La disminución de Ca<sup>++</sup> en el momento de la acidificación podría atribuirse al periodo intermedio en que NCE, en su forma habitual, contribuiría, junto con NHE, a aumentar la concentración de Na<sup>+</sup> lo que a su vez provoca la función.

En la figura 8 se muestra la variación (%) del Ca<sup>++</sup> intracelular respecto al basal transcurridos siete minutos de la acidificación. Los ensayos se realizaron con tres líneas celulares: cardiomiocitos de ratón (HL1), fibroblastos (NIH3T3) y renales de embrión humano (293HEK). La presencia de PINHE frena el aumento de Ca<sup>++</sup> intracelular en todos los casos. En este caso hay que señalar que solo las experiencias con HL1 se realizaron en presencia de los bloqueadores de la entrada de Ca<sup>++</sup> a los reservorios (thapsigargina y rhanodina). Las experiencias con NIH3T3 y 293HEK presentan una disminución del Ca<sup>++</sup> intracelular respecto al valor basal. Esta "desaparición" de Ca<sup>++</sup> se podría atribuir a la entrada en los reservorios ya que estos no están bloqueados.

**Figura 8.** Porcentaje del incremento de Ca<sup>++</sup> intracelular transcurridos siete minutos desde la acidificación y respecto al valor inicial (100%). Los ensayos se realizaron en líneas celulares de cardiomiocitos (HL1), fibroblastos (NIH3T3) y células de riñón de embrión humano (293HEK) en presencia de 1000 U.A./ml de PINHE y en ausencia del mismo (control).



No obstante no disponemos de pruebas experimentales para saber el destino de esta  $Ca^{++}$ .

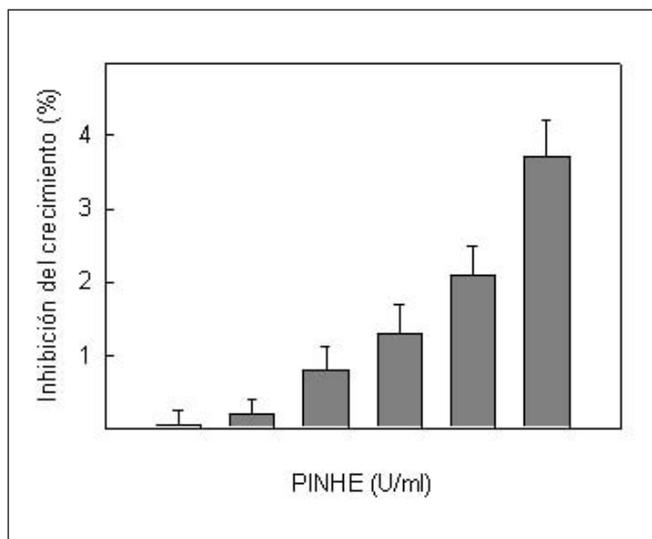
Se puede concluir como resumen que el PINHE en su acción de inhibición de NHE ejerce un efecto protector de la célula respecto del aumento de  $Ca^{++}$  citoplasmático como consecuencia de la acidificación del citoplasma.

## 5. PROLIFERACIÓN CELULAR

El efecto citotóxico que la presencia de PINHE puede tener sobre la proliferación celular en un cultivo, se abordó en base a la inhibición del crecimiento del cultivo de células NIH/3T3. El crecimiento de dichas células se realizó mediante cultivo a 37°C y 5%  $CO_2$  durante 72 horas en presencia de concentraciones crecientes de PINHE y se comparó con los correspondientes controles en ausencia del mismo y en presencia de DMSO (como disolvente). Se realizó una serie de controles paralelos con DMSO a concentraciones crecientes e iguales a las que se encontraban en los cultivos con PINHE. El porcentaje de inhibición se calculó refiriendo la absorbancia de la medida del crecimiento (formazán formado por la actividad metabólica de las células con el reactivo WST1) a los controles. El efecto inhibitor del DMSO sobre la proliferación, apareció en valores de concentración superiores al 3%. Este valor concuerda con otros valores reseñados en la bibliografía en donde se señala que el DMSO no tiene un efecto inhibitor de la proliferación celular por debajo de ciertas concentraciones, 1.5% <sup>62;63</sup>. sin apreciarse efectos en la apoptosis ni en la diferenciación celular o citotoxicidad <sup>62</sup>. El DMSO produce una parada reversible en la transición G0/G1 en líneas celulares del linfoma de Burkitt <sup>62</sup> o linfocitos T humanos <sup>64</sup>.

Los resultados del efecto del PINHE sobre la proliferación celular se reflejan en la figura 9. Se puede apreciar una inhibición ligera del crecimiento celular por debajo del 4% a la concentración más elevada (5000 U.A./ml), mientras que concentraciones inferiores a 1000 U.A./ml no presentan efecto alguno sobre el crecimiento de NIH3T3. El efecto inhibitor de la proliferación de inhibidores de NHE se constata en la bibliografía, así EIPA juega un papel clave en la regulación de la proliferación de hepatocitos <sup>65</sup>, HOE694 produce una inhibición dependiente de la dosis en células endoteliales de aorta bovina <sup>66</sup>, amiloride inhibe de forma reversible la proliferación de células renales

**Figura 9.** Inhibición del crecimiento de células NIH/3T3 por la presencia de PINHE en el medio de cultivo. El crecimiento se determinó mediante el reactivo WST1. Los valores son media  $\pm$  desviación típica.



y hepatocitos de ratón pero por mecanismos diferentes a la acción inhibitora sobre los intercambiadores NHE y NKE <sup>67</sup>. EIPA y amiloride presentan una limitación del crecimiento sobre la base de una inhibición de la síntesis de DNA en células de músculo liso de rata <sup>68</sup> o la incorporación de  $H^3$ -timidina a la línea de células pancreáticas AR42J <sup>69</sup>.

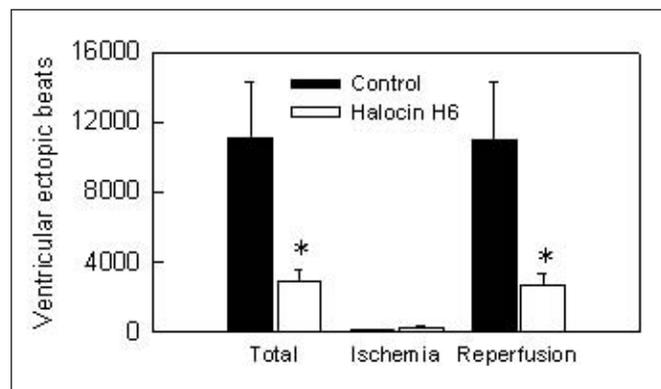
## 6. EXPERIMENTOS IN VIVO: ISQUEMIA-REPERFUSIÓN EN PERROS

Se realizaron experimentos in vivo utilizando un modelo de isquemia-reperfusión en perros consistente en la oclusión de la arteria coronaria. Los resultados demuestran que la inhibición de NHE con nuestro inhibidor produjo una disminución significativa de los latidos ectópicos ventriculares prematuros y del tamaño del infarto mientras que tanto la presión arterial como el ritmo cardíaco no se vieron afectados.

### 6.1. Latidos ectópicos ventriculares

Como se aprecia en la figura 10, el número de latidos ectópicos ventriculares detectados mediante ECG durante la reperfusión fue significativamente ( $P < 0.05$ ) más bajo en el grupo tratado (2719; 680) (media; error estándar) que en el grupo control (10977; 3280), igualmente que el total de latidos ectópicos correspondientes a la oclusión más la reperfusión <sup>37;72</sup>. Sin embargo no existieron diferencias significativas entre los grupos tratado (233; 116) y el control (123; 43) <sup>37</sup>.

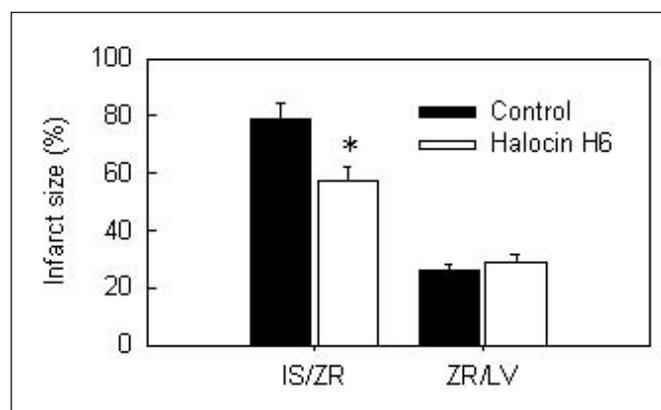
**Figura 10.** Latidos ectópicos ventriculares detectados a lo largo de la oclusión y reperusión. Resultados como media y error estándar (barra de error). \* $P < 0.05$  control frente a tratado.



## 6.2. Tamaño del infarto

En la figura 11 se muestra los valores del tamaño del infarto entre los grupos tratado y control. La acción del inhibidor produce una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) del tamaño del mismo expresado como el porcentaje de la zona de riesgo (IS/RZ) del control (73.2; 5.5) frente al tratado con PINHE (57.5; 5.0). Sin embargo no se detectaron diferencias significativas entre el grupo control (26.5; 1.6) y el tratado (29.2; 2.5) cuando se expresa la zona de riesgo (RZ) como porcentaje del peso del ventrículo izquierdo, lo que confirma la homogeneidad del modelo de infarto experimental utilizado<sup>37;72</sup>.

**Figura 11.** Valores de tamaño del infarto (media, error estándar) por control (suero salino) y grupo tratado (PINHE). Los resultados se expresan como porcentaje de zona de riesgo (IS/ZR) y zona de riesgo como porcentaje de peso de ventrículo izquierdo (ZR/LV). \* $P < 0.05$  control frente al grupo tratado.



## 7. CONCLUSIONES

Los resultados experimentales (in vivo) obtenidos en el presente trabajo confirman nuestra hipótesis de que PINHE inhibe el transportador NHE de células de mamífero

y que dicha inhibición es reversible y dosis dependiente. Las diferencias respecto a otros inhibidores sintéticos de NHE es debido al hecho de su naturaleza proteica y de las ventajas ya descritas anteriormente<sup>70</sup>: (i) Es efectivo a bajas concentraciones, (ii) es activo a temperaturas y concentraciones de sales altas, (iii) es resistente a la digestión con tripsina lo que permitiría utilizarlo en el tracto gastro-intestinal.

Todo ello confirma que PINHE puede ser un candidato para uso terapéutico en condiciones patológicas donde tanto la hiperactividad o la sobre expresión de NHE podría estar involucrada.

De los experimentos in vivo se deduce que la administración intravenosa de PINHE produce una protección significativa sobre el miocardio isquémico y reperfundido, reduciendo las arritmias durante la reperusión y disminuyendo el tamaño del infarto<sup>37;72</sup>. Todo ello está en acuerdo con el papel de PINHE como inhibidor de NHE que demostramos en este trabajo y que ha sido demostrado para otros inhibidores de NHE de mamíferos<sup>71</sup>.

Como conclusión final podemos decir que PINHE como producto de haloarqueas inhibe el NHE de mamíferos incluyendo al hombre y ejerce un efecto protector sobre el miocardio dañado en un modelo de isquemia-reperusión en perros<sup>37;72</sup>. Hasta la fecha PINHE es la única molécula biológica conocida que tiene un efecto inhibitor sobre el intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  en células de mamífero<sup>37</sup>. El descubrimiento de que PINHE inactiva o inhibe una molécula objetivo similar en mamíferos como lo hace en haloarqueas sugiere la posibilidad de que otras halocinas del Dominio Archaea compartan un papel similar, lo que abre las posibilidades de nuevas líneas de investigación futuras sobre estos efectos farmacéuticos.

## Bibliografía

- González-Martínez, B. E.; Gómez-Treviño M.; Jiménez-Salas Z. "Bacteriocinas de prebióticos. Características, propiedades antibacterianas y modo de acción". Mundo Alimentario Noviembre/Diciembre 2005. info@mundoalimentario.com
- Fernández-Dumont, A.; Horn N.; Rodríguez Gómez J.M.; Alimentaria: Revista de tecnología e higiene de los alimentos, ISSN 0300-5755, Nº 360, 2005, pags. 49-54.
- Gutiérrez-Merino, J. "Caracterización inmunoquímica de la enterocina P y evaluación de su clonación, producción y expresión funcional en Escherichia coli, Methylobacterium extorquens, Lactococcus lactis y Pichia pastoris". Tesis Doctoral 2006.
- Sánchez-Hidalgo, M. "Caracterización de variantes de la enterocina AS-48 obtenidas mediante mutagénesis dirigida". Tesis doctoral Universidad de Granada 2006.

5. López-Brea, M; Domingo D. Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid. "Revisión Antibióticoterapia con prebióticos". *Rev Esp Quimioterap*, Junio 2007; Vol. 20 (Nº 2): 170-181. © 2007 Prous Science, S.A.- Sociedad Española de Quimioterapia.
6. Putney, L. K; Denker, S. P.; Barber, D. L. *Annu.Rev.Pharmacol. Toxicol.* **2002**, 42:527-52.
7. Counillon, L.; Pouyssegur, J. *J.Biol.Chem.* **2000**, 275, 1-4.
8. Orłowski, J.; Grinstein, S. *J.Biol.Chem.* **1997**, 272, 22373-22376.
9. Grinstein, S.; Rotin, D.; Mason, M. J. *Biochim.Biophys.Acta* **1989**, 988, 73-97.
10. Szabo, E. Z.; Numata, M.; Shull, G. E.; Orłowski, J. *J.Biol.Chem.* **2000**, 275, 6302-6307.
11. Scholz, W.; Albus, U. *Cardiovasc.Res.* **1995**, 29, 184-188.
12. Counillon, L.; Scholz, W.; Lang, H. J.; Pouyssegur, J. *Mol.Pharmacol.* **1993**, 44, 1041-1045.
13. Karmazyn, M.; Gan, X. T.; Humphreys, R. A.; Yoshida, H.; Kusumoto, K. *Circ.Res.* **1999**, 85, 777-786.
14. Scholz, W.; Albus, U.; Lang, H. J.; Linz, W.; Martorana, P. A.; Englert, H. C.; Scholkens, B. A. *Br.J.Pharmacol.* **1993**, 109, 562-568.
15. Scholz, W.; Albus, U.; Linz, W.; Martorana, P.; Lang, H. J.; Scholkens, B. A. *J.Mol.Cell Cardiol.* **1992**, 24, 731-739.
16. Fliegel, L.; Dyck, J. R. *Cardiovasc.Res.* **1995**, 29, 155-159.
17. Pei, J. M.; Zhou, J. J.; Bian, J. S.; Yu, X. C.; Fung, M. L.; Wong, T. M. *Am.J.Physiol Cell Physiol* **2000**, 279, C1483-C1494.
18. Schafer, C.; Ladilov, Y. V.; Schafer, M.; Piper, H. M. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* **2000**, 279, H2143-H2150.
19. Tritto, F. P.; Inserte, J.; Garcia-Dorado, D.; Ruiz-Meana, M.; Soler-Soler, J. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* **1998**, 115, 709-715.
20. Stromer, H.; de Groot, M. C.; Horn, M.; Faul, C.; Leupold, A.; Morgan, J. P.; Scholz, W.; Neubauer, S. *Circulation* **2000**, 101, 2749-2755.
21. Snabaitis, A. K.; Chambers, D. *Transplantation* **1999**, 68, 1444-1453.
22. Lang, F.; Madlung, J.; Bock, J.; Lukewille, U.; Kaltenbach, S.; Lang, K. S.; Belka, C.; Wagner, C. A.; Lang, H. J.; Gulbins, E.; Lepple-Wienhues, A. *Pflugers Arch.* **2000**, 440, 902-907.
23. Hale, S. L.; Kloner, R. A. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* **2000**, 279, H2673-H2677.
24. Avkiran, M. *Circulation* **1999**, 100, 2469-2472.
25. Avkiran, M.; Marber, M. S. *J.Am.Coll.Cardiol.* **2002**, 39, 747-753.
26. Gazmuri, R. J.; Ayoub, I. M.; Kolarova, J. D.; Karmazyn, M. *Crit Care Med.* **2002**, 30, S166-S171.
27. Vornov, J. J.; Thomas, A. G.; Jo, D. *J.Neurochem.* **1996**, 67, 2379-2389.
28. Horikawa, N.; Nishioka, M.; Itoh, N.; Kuribayashi, Y.; Matsui, K.; Ohashi, N. *Pharmacology* **2001**, 63, 76-81.
29. Suzuki, Y.; Matsumoto, Y.; Ikeda, Y.; Kondo, K.; Ohashi, N.; Umemura, K. *Brain Res.* **2002**, 945, 242-248.
30. Cragoe, E. J., Jr.; Woltersdorf, O. W., Jr.; Bicking, J. B.; Kwong, S. F.; Jones, J. H. *J.Med.Chem.* **1967**, 10, 66-75.
31. Frelin, C.; Vigne, P.; Lazdunski, M. *J.Biol.Chem.* **1983**, 258, 6272-6276.
32. Meseguer, I.; Rodriguez-Varela F. *FEMS Microbiol.Lett.* **1985**, 28, 177-182.
33. Torreblanca, M.; Meseguer, I.; Rodriguez-Varela F. *J.Gen.Microbiol.* **1989**, 135, 2655-2661.
34. Torreblanca, M.; Meseguer, I.; Ventosa A. *Lett.Appl.Microbiol.* **1994**, 19, 201-205.
35. Meseguer, I.; Torreblanca, M.; Konishi, T. *J.Biol.Chem.* **1995**, 270, 6450-6455.
36. Torreblanca, M., Lequerica, J. L., O'Connor, E., Meseguer, I., Dolz, M. C., Such, L., Sánchez, M., and Alberola, A. Spain Patent **2002**.
37. Dolz, M. C. Tesis doctoral Universidad de Valencia, 2003.
38. Toyoda, Y.; Khan, S.; Chen, W.; Parker, R. A.; Levitsky, S.; McCully, J. D. *Ann.Thorac.Surg.* **2001**, 72, 836-843.
39. Goldberg, S. P.; Digerness, S. B.; Skinner, J. L.; Killingsworth, C. R.; Katholi, C. R.; Holman, W. L. *Ann.Thorac.Surg.* **2002**, 73, 569-574.
40. Roszkopf, D.; Dusing, R.; Siffert, W. *Hypertension* **1993**, 21, 607-617.
41. Matteucci, E.; Giampietro, O. *Diabetes Nutr.Metab* **2001**, 14, 225-233.
42. Gillis, D.; Shrode, L. D.; Krump, E.; Howard, C. M.; Rubie, E. A.; Tibbles, L. A.; Woodgett, J.; Grinstein, S. *J.Membr.Biol.* **2001**, 181, 205-214.
43. Claycomb, W. C.; Lanson, N. A., Jr.; Stallworth, B. S.; Egeland, D. B.; Delcarpio, J. B.; Bahinski, A.; Izzo, N. J., Jr. *Proc.Natl.Acad. Sci.U.S.A* **1998**, 95, 2979-2984.
44. Lequerica, J. L.; Mirabet, V.; Montero, J. A.; Hurtado, C.; Piquer, S.; Carbonell, F. *Ann.Transplant.* **1999**, 4, 103-108.
45. Mirabet V; Lequerica JL; Montero J; Hurtado C; Carbonell F. "Cultivo *in vitro* de células satélite de músculo esquelético. "¿Una alternativa terapéutica para el tratamiento de la cardiopatía isquémica?". Investigación Cardiovascular 3[2], 91-103. Ref Type: Generic 2000.
46. Dolz, M.; O'Connor, J. E.; Lequerica, J. L. *Cytometry* **2004**, 61A, 99-104.
47. NACHLAS, M. M.; SHNITKA, T. K. *Am.J Pathol.* **1963**, 42:379-405., 379-405.
48. Claycomb, W. C.; Lanson, N. A., Jr.; Stallworth, B. S.; Egeland, D. B.; Delcarpio, J. B.; Bahinski, A.; Izzo, N. J., Jr. *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A* **1998**, 95, 2979-2984.
49. Renner, E. L.; Lake, J. R.; Cragoe, E. J., Jr.; Scharschmidt, B. F. *Biochim.Biophys.Acta* **1988**, 938, 386-394.

50. Calonge, M. L.; de la Horra, M. C.; Ilundain, A. *Biochim.Biophys.Acta* **1997**, *1325*, 263-271.
51. Toda, H.; Noguchi, T.; Miyagishi, A.; Ito, N.; Umekawa, K.; Sato, Y.; Kitano, M.; Ohashi, N. *Int.J.Tissue React.* **1999**, *21*, 61-70.
52. Petrecca, K.; Atanasiu, R.; Grinstein, S.; Orłowski, J.; Shrier, A. *Am.J.Physiol* **1999**, *276*, H709-H717.
53. Slepko, E.; Fliegel, L. *Biochem.Cell Biol.* **2002**, *80*, 499-508.
54. Besse-Eschmann, V.; Klisic, J.; Nief, V.; Le Hir, M.; Kaissling, B.; Ambuhl, P. M. *J.Am.Soc.Nephrol.* **2002**, *13*, 2199-2206.
55. Biemesderfer, D.; Pizzonia, J.; Abu-Alfa, A.; Exner, M.; Reilly, R.; Igarashi, P.; Aronson, P. S. *Am.J.Physiol* **1993**, *265*, F736-F742.
56. Wang, T.; Hropot, M.; Aronson, P. S.; Giebisch, G. *Am.J.Physiol Renal Physiol* **2001**, *281*, F1117-F1122.
57. Schafer, C.; Ladilov, Y.; Inserte, J.; Schafer, M.; Haffner, S.; Garcia-Dorado, D.; Piper, H. M. *Cardiovasc.Res.* **2001**, *51*, 241-250.
58. Austin, C.; Wray, S. *Circ.Res.* **2000**, *86*, 355-363.
59. Rogers, T. B.; Inesi, G.; Wade, R.; Lederer, W. J. *Biosci.Rep.* **1995**, *15*, 341-349.
60. Zucchi, R.; Ronca-Testoni, S. *Pharmacol.Rev.* **1997**, *49*, 1-51.
61. Ladilov, Y.; Haffner, S.; Balser-Schafer, C.; Maxeiner, H.; Piper, H. M. *Am.J.Physiol* **1999**, *276*, H1868-H1876.
62. Sharma, S.; Raymond, E.; Soda, H.; Izbicka, E.; Davidson, K.; Lawrence, R.; Von Hoff, D. D. *Leuk.Res.* **1998**, *22*, 663-670.
63. Greenman, S. B.; Rutten, M. J.; Fowler, W. M.; Scheffler, L.; Shortridge, L. A.; Brown, B.; Sheppard, B. C.; Deveney, K. E.; Deveney, C. W.; Trunkey, D. D. *Environ.Res.* **1997**, *75*, 85-93.
64. Sawai, M.; Takase, K.; Teraoka, H.; Tsukada, K. *Exp.Cell Res.* **1990**, *187*, 4-10.
65. Benedetti, A.; Di Sario, A.; Casini, A.; Ridolfi, F.; Bendia, E.; Pignini, P.; Tonnini, C.; D'Ambrosio, L.; Feliciangeli, G.; Macarri, G.; Svegliati-Baroni, G. *Gastroenterology* **2001**, *120*, 545-556.
66. de Dios, S. T.; Hannan, K. M.; Dilley, R. J.; Hill, M. A.; Little, P. J. *J.Diabetes Complications* **2001**, *15*, 120-127.
67. Grantham, J. J.; Grantham, J. A.; Donoso, V. S.; Cragoe, E. J., Jr. *J.Lab Clin.Med.* **1989**, *114*, 129-134.
68. Mitsuka, M.; Nagae, M.; Berk, B. C. *Circ.Res.* **1993**, *73*, 269-275.
69. Delvaux, M.; Bastie, M. J.; Chentoufi, J.; Ribet, A.; Vaysse, N. *Digestion* **1990**, *46 Suppl 2:156-61.*, 156-161.
70. Torreblanca, M.; Meseguer, I.; Rodriguez-Varela F. *J.Gen.Microbiol.* **1989**, *135*, 2655-2661.
71. Scholz, W.; Albus, U.; Linz, W.; Martorana, P.; Lang, H. J.; Scholkens, B. A.

## **Informes y Revisiones**

# **Panorama actual de la Nutrigenómica. ¿Esperanza o Realidad?**

## **Nutrigenomic current panorama. Hope or reality?**

Jose Luis Fernández\*, Javier Benito\*

\* *Círculo de Innovación en Biotecnología madrimsd*

### **Resumen**

El **Círculo de Innovación en Biotecnología** (CIBT), iniciativa del Sistema madri+d en el que participa el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, las Universidades Autónoma y Complutense de Madrid así como el Parque Científico de Madrid, ha elaborado el informe titulado "Panorama actual de la Nutrigenómica". Dicho trabajo se ha realizado a petición y en colaboración con la Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación (SEDCA), en el que se muestra la situación actual de la Nutrigenómica, así como sus aplicaciones empresariales. Los principales resultados se recogen en este artículo, pudiendo consultarse en informe completo en la página [www.madrimasd.org/biotecnologia](http://www.madrimasd.org/biotecnologia)

### **Abstract**

The Circle of Innovation in Biotechnology madri+d (CIBT) in collaboration with the Spanish Society of Dietetic and food Science (SEDCA) has elaborated a report that offers a perspective of the current situation in the field of Nutrigenomics and their potential business applications.

This report shows a review of the current state of

Nutrigenomic, trying to clarify several key concepts of scientific literature, and make an analysis of diseases which have been directly related to diet. Furthermore, this study offers a deep analysis of the business environment surrounding the effective implementation of the Nutrigenomic and its possible influence on public health.

This revision offer a global perspective of the state of Nutrigenomics in a scientific and business level and discuss in deep its possible evolution in a medium or long term.

### **Introducción**

#### **1. GENÓMICA Y NUTRIGENÓMICA**

El Proyecto Genoma Humano (PGH) nació en un marco de revolución científica propuesto en la década de los ochenta con el objetivo de cartografiar el conjunto de las instrucciones genéticas del ser humano, es decir, el mapeo de los genes y sus marcadores aprovechando los avances conseguidos en el campo de la genómica (especialmente, en el análisis de secuenciación), así como los avances en bioinformática. Su inicio se realizó formalmente en 1990 y finalizó en 2003 gracias a la amplia colaboración internacional. Este hecho ha supuesto una nueva página en la historia científica, ya que ha abierto un amplio abanico de desarrollos biotecnológicos, dando respuestas y generado nuevos interrogantes.

El desarrollo de la genómica comprende el estudio de todas las secuencias de nucleótidos presentes en

### **Correspondencia:**

[javier.benito@madrimasd.org](mailto:javier.benito@madrimasd.org)

**Círculo de Innovación en Biotecnología madri+d,**

[www.madrimasd.org/biotecnologia](http://www.madrimasd.org/biotecnologia)

PCM. C/Santiago Grisolia 2, 28760 Tres Cantos, Madrid

los cromosomas de un organismo. Con la ejecución del PGH, ahora se conoce que el número total de genes codificadores de proteínas en los humanos oscila entre los 20 y 25 mil. El interés se centra actualmente en el reconocimiento de los genes que podrían estar relacionados con el desarrollo de enfermedades o rasgos morfológicos modificados debido a sus mutaciones.

El desarrollo de este proyecto significa, además de la apertura de nuevos caminos para el desarrollo de la genética, una vía para prevenir y mejorar los tratamientos de enfermedades crónicas y hereditarias que amenazan la salud pública. Actualmente se dispone de una amplia información sobre los complejos procesos biológicos a nivel molecular, determinando qué genes se activan o se bloquean, qué proteínas se producen y cómo éstas influyen en los procesos metabólicos. También se han abierto nuevas perspectivas sobre la forma en que las distintas variaciones genéticas entre cada individuo y los distintos factores ambientales pueden modificar estos eventos moleculares e influir en la respuesta individual al estilo de vida o a los distintos tratamientos tanto dietéticos como farmacológicos.

Fue a partir del desarrollo de la farmacogenómica sobre la que se ha desarrollado posteriormente el estudio de la interrelación entre genes, dieta y enfermedad, desarrollando el reciente campo de la **genómica nutricional** o lo que se ha dado en llamar **nutrigenómica** y **nutrigenética**.

Esta nueva disciplina científica hace confluír la nutrición y la genética, investigando cómo las distintas variaciones genéticas individuales participan en la compleja interacción entre la sensibilidad a los nutrientes y las enfermedades.

La genómica nutricional supone una modalidad de investigación en nutrición con la que se vislumbra un **futuro prometedor** junto con la aparición de **nuevos retos** con el objetivo de mejorar la salud y prevenir enfermedades relacionadas con el tipo de alimentación y estilos de vida.

## 2. REVISIÓN DE LA NUTRIGENÓMICA (1)

La relación existente entre la dieta y los efectos sobre la salud son innegables y demostrados a lo largo de la historia. Entre las investigaciones que demuestran esta influencia, se pueden mencionar varias investigaciones realizadas con distintas poblaciones de referencia. Entre ellos, un estudio británico que efectuó un seguimiento durante 17 años a unos 11.000 individuos

con dieta vegetariana con el objetivo de determinar la relación entre distintos productos de la dieta y la frecuencia de mortalidad por distintas causas. Los resultados mostraron una reducción entre el 21-24% de mortalidad por enfermedad crónica.(2)

De la misma forma, se han desarrollado otros trabajos que han analizado los datos de cinco estudios prospectivos que abarcan un total de 76.000 pacientes durante 10 años, llegando a los mismos porcentajes de reducción de mortalidad pero restringido exclusivamente a aquellas personas que mantenían ese tipo de dieta vegetariana durante al menos 5 años.(3)(5)

Todas estas investigaciones en torno a la nutrición hasta la fecha han contribuido a definir recomendaciones o guías dietéticas basadas en las mejores pruebas científicas disponibles con el objetivo de mejorar la salud de la población general o sectores de población con riesgo de sufrir ciertas enfermedades concretas.

En todo caso, es indiscutible que las orientaciones nutricionales actuales no tienen en cuenta las diferencias que se producen en la respuesta de cada individuo a la ingesta de los mismos nutrientes.

Existen muchos estudios que evidencian la forma diferente de respuesta de distintos individuos a las mismas dietas. Por ejemplo, el sodio aumenta la presión arterial en determinadas personas y en otras apenas tiene influencia. Otro caso evidente es la capacidad para reducir el colesterol, la cual parece estar sujeta a influencias genómicas, lo que produce distintas respuestas a las mismas pautas dietéticas. Cuando un grupo de personas sigue durante un periodo de tiempo una dieta terapéutica para reducir el nivel global de colesterol en sangre, ciertos individuos tienen un beneficio drástico a nivel metabólico, mientras que otros no obtienen ninguna respuesta.

Esta gran variabilidad en la respuesta, puede alterar enormemente la eficacia de las recomendaciones nutricionales generales que se han realizado tradicionalmente cuando éstas se trasladan a escala individual. Las investigaciones actuales sugieren que, a pesar de que existe un conjunto de pautas alimentarias generales para toda la población, puede que no se adecuen a las necesidades de todo el mundo. Las distintas variaciones genéticas condicionan diferencias en los requerimientos nutricionales y los distintos genotipos contribuyen a la mayor o menor predisposición a sufrir ciertas enfermedades crónicas.

Tras comprobarse que las diferencias genéticas entre individuos producen diferentes reacciones a los nutrientes, surge la idea de combinar genética y nutrición, desarrollándose el nuevo campo de la **genómica nutricional**.(1) (Figura 1)

Por tanto este nuevo campo de la genómica se puede definir como la aplicación de la genómica funcional a la investigación nutricional(9), para comprender de que manera los nutrientes influyen sobre los procesos metabólicos y de que manera la carga genética y la dieta influyen en la aparición o prevención de enfermedades.

Muchos autores distinguen dos términos dentro de esta disciplina general, la nutrigenómica y la nutrigenética, dos dimensiones que abordan los aspectos mencionados sobre la genómica nutricional.

Por un lado, la **nutrigenética** estudia el efecto de la variación genética en la interacción entre dieta y enfermedad, identificando y caracterizando las variaciones genéticas asociadas a las diferentes respuestas frente a los nutrientes. Su objetivo es formular recomendaciones en relación a los riesgos y beneficios de utilizar dietas o compuestos nutricionales específicos para cada persona. Este término se suele vincular a la idea de "nutrición personalizada" o "nutrición individualizada"(9). Un ejemplo serían las diferentes respuestas de los individuos a los mismos nutrientes obteniendo diferentes valores de colesterol en sangre y presión arterial debido a sus variaciones genéticas.

Por otro lado, la **nutrigenómica** se podría definir como el estudio del efecto que producen los nutrientes sobre la expresión génica, conformando un perfil metabólico en cada individuo (proteínas, metabolitos, etc), intentando estudiar la prevención de patologías por medio de la dieta. La progresión desde un fenotipo

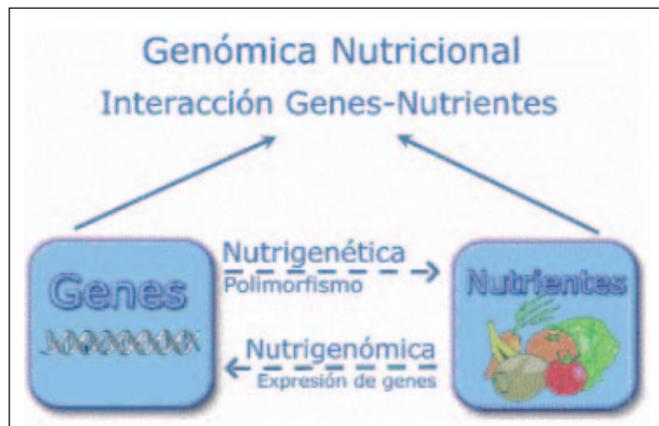
sano a un fenotipo de enfermedad crónica puede explicarse por cambios en la expresión genética o por diferencias en las actividades de proteínas y enzimas, y los componentes de la dieta directa o indirectamente regulan la expresión de esa información genética.

La genómica nutricional ha suscitado ya un gran interés y un alto nivel de expectación, sin embargo las investigaciones que analizan las interacciones nutriente-gen se han iniciado hace relativamente poco tiempo. Esta situación posiciona a la comunidad científica lejos todavía del entendimiento completo de los mecanismos responsables de la variabilidad de respuesta a la dieta en cada individuo, por lo que la puesta en práctica de los estudios realizados han sido controvertidos y no del todo concluyentes.

Cada vez hay más evidencias de que los nutrientes interactúan directamente con los genes y todo parece indicar que ciertos alimentos con compuestos bioactivos son capaces de interactuar con regiones del genoma consiguiendo una acción protectora frente a mecanismos de iniciación de algunas enfermedades, mientras que otros pueden provocar el efecto contrario. Sin embargo, estos estudios no tienen una aplicación universal, ya que existen variaciones genéticas en las que la relación entre nutriente y genes no actúan bajo los mismos parámetros.

El aporte prometedor de esta modalidad de investigación en nutrición vislumbra nuevos retos para determinar qué genes están relacionados en los distintos procesos nutricionales. Una vez se consiga avanzar lo suficiente en este ámbito, se podrán precisar dietas en función de los requerimientos específicos de cada persona a partir de la información contenida en su genoma y potencialmente permitirá determinar una nutrición óptima o nutrición **personalizada** para las poblaciones con características comunes, grupos particulares e individuos.

**Figura 1:** Esquema descriptivo de las interacciones gen-nutriente (12).



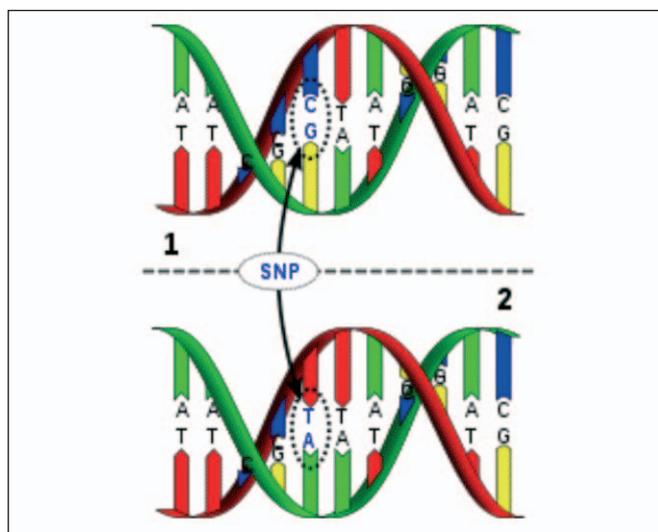
## 2.1. Polimorfismos (SNPs) y mutaciones

De los 3 mil millones de pares de bases del ADN humano, el 99,9% de las secuencias de ADN son idénticas, sin embargo esas diferencias entre los distintos individuos tienen una elevada significación biológica(13) y son las que determinan las diferencias fenotípicas. Nuestro código genético es lo que nos hace ser, compartiendo genes y funciones, aunque cada uno de nosotros es único y diferente, lo cual se expresa por las mínimas variaciones genéticas existentes.

La forma más común de variabilidad genética son los **polimorfismos** de un solo nucleótido (**SNP** por sus siglas en inglés "Single Nucleotide Polymorphism") que hacen referencia a la variación que afecta a un solo nucleótido en la secuencia de ADN entre los individuos de una población. Este tipo de variaciones debe darse al menos en un 1% de la población para considerarse como un SNP. (Figura 2)

Sin embargo, generalmente también se consideran SNP los cambios en unos cuantos nucleotidos, además de pequeñas inserciones y deleciones, que incluyen pequeñas secuencias de nucleótidos que se repiten, pérdidas de bases o cambios de posición.

**Figura 2:** Single Nucleotide Polymorphism (SNP). Fuente: David Hall (Wikipedia)



Existe una confusión a la hora de caracterizar las distintas variantes genéticas identificadas en los distintos estudios como **SNPs** o **mutaciones**. Las mutaciones implican algún cambio en el material genético, que puede ir desde un simple nucleótido a una pérdida importante del material genético, por tanto engloban también a los SNPs. Normalmente las mutaciones son consideradas patológicas o anormales, mientras que los SNP se pueden considerar variaciones normales en la secuencia del ADN entre unos individuos y otros. Se podría decir que la mayoría de los SNP proceden de mutaciones silentes, representando más del 90% de todas las variaciones genómicas humanas. Éstos aparecen cada 100 a 300 bases de promedio, estimándose que el genoma humano contiene sobre los 10 millones de SNPs.

Para evitar este tipo de confusiones, algunos autores utilizan el término "variante alélica" para referirse a la

alteración de la secuencia normal de un gen sin tener en cuenta el número de nucleótidos alterados, su frecuencia ni su asociación fenotípica, refiriéndose a las variantes alélicas patológicas como mutaciones.

El desafío de la investigación actual parece encaminado a detectar esas **variantes alélicas** clave que pueden ser sensibles al efecto de un componente dietético determinado, alterando la respuesta metabólica de un individuo para determinar el impacto de su variación sobre salud y enfermedad.

Una parte importante del conocimiento actual que relaciona la ingesta dietética con el fenotipo y el riesgo de sufrir enfermedades deriva de estudios poblacionales basados en la **detección de un gen o variantes alélicas** y su interrelación con otros genes, nutrientes y la aparición de la enfermedad.

Esto ha llevado a la clasificación de las enfermedades, desde este punto de vista, como enfermedades **monogénicas**, cuando están determinadas por un solo gen (fenilcetonuria, intolerancia a la lactosa, enfermedad celíaca, hipercolesterolemia, etc), o como **multifactoriales**, cuando su expresión esta determinada por una combinación de varios genes y otros factores ambientales (enfermedades cardiovasculares, cáncer, osteoporosis, enfermedades neuronales, etc).

Los resultados obtenidos en las enfermedades monogénicas parecen ser más convincentes que los relativos a las multifactoriales, ya que en principio, es más fácil la comprensión de las interacciones genéticas que determinan la expresión de esas enfermedades. Por otro lado, la mejoría en el entendimiento de las enfermedades monogénicas puede ayudar a avanzar en el campo de las interacciones más complejas entre varios genes y factores ambientales implicados en la expresión de enfermedades multifactoriales.

En cualquier caso, parece que esta clasificación es una simplificación de la realidad y todavía se está lejos de tener una comprensión plena de la situación. Las enfermedades monogénicas clásicas evidencian muchas diferencias entre individuos con la presencia del mismo gen, por lo que la interacción con otros genes, agentes modificadores, factores ambientales, etc., también parecen influir en distintas direcciones.

A pesar de esta simplificación teórica y el limitado número de estudios, las pruebas sobre las interacciones gen-dieta para enfermedades multifactoriales como las enfermedades cardiovasculares y el cáncer son abun-

dantes y muy prometedoras. Los investigadores creen que a lo largo de esta década se conseguirá un alto grado de comprensión de estas interrelaciones, aunque parece indiscutible que para obtener datos aplicables a la población, éstos deben ser aún validados por más datos científicos sólidos.

### 2.2. Implantación en la salud pública

A lo largo del tiempo y en muchos países se han ido implantado versiones simplificadas del concepto de nutrigenómica. Por ejemplo, en el caso de recién nacidos, se han diseñado programas de detección de defectos metabólicos congénitos para enfermedades monogénicas como la fenilcetonuria, galactosemia, etc. pudiendo prevenir los efectos mediante la correcta combinación de nutrientes.

La genómica nutricional se puede considerar un campo científico en rápido desarrollo con un **alto potencial** que podría cambiar en la salud pública la forma de establecer las recomendaciones dietéticas en el futuro.

La nutrigenómica puede establecer las bases para unas **recomendaciones dietéticas personalizadas** que tengan en cuenta la carga genética de cada individuo y los factores ambientales a los que esté expuesto. Esto supondrá tener un conocimiento de todos los polimorfismos "informativos" del individuo, de tal forma que se pueda predecir la predisposición genética futura a las enfermedades, facilitando la implantación de las adecuadas medidas preventivas de forma personalizada (consejos dietéticos, estilos de vida, alimentos funcionales para determinados perfiles genéticos, etc.) y una mejora general en la salud pública.

No obstante, todavía no queda muy claro en la práctica en que consistirá la nutrigenómica, si se tratará fundamentalmente de un consejo nutricional a partir de los resultados de un análisis genético en lugar de prescripciones farmacológicas, si su utilización será función de los **nutricionistas** o de la **medicina general** o que pacientes son candidatos para utilizar los servicios de la nutrigenómica, etc.

### 3. ESTUDIO DEL ENTORNO CIENTÍFICO

Para llevar a cabo el estudio sobre el panorama actual de la nutrigenómica, se ha realizado por el Círculo de Innovación en Biotecnología (CIBT) una primera fase intentado plasmar el estado actual de las investigaciones en este ámbito.

El proceso de vigilancia tecnológica para el análisis del entorno científico ha conllevado una recopilación bibliográfica utilizando distintas fórmulas de búsqueda con unas 40 palabras clave tanto sus términos en español como en inglés en más de 20 bases de datos y revistas especializadas de distintas temáticas para obtener artículos científicos, proyectos de investigación, tesis doctorales y patentes. De tal forma que se han revisado más de 150 artículos científicos, se han detectado entorno a los 40 grupos con líneas de investigación relacionados con la nutrigenómica, hasta 8 proyectos europeos sobre esta temática, además de la revisión de 4 Tesis y 15 portales temáticos. (Figura 3)

**Figura 3:** Resumen de la fuentes de información utilizadas para el proceso de vigilancia tecnológica.

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN		
CORDIS	<a href="http://cordis.europa.eu/index.htm">http://cordis.europa.eu/index.htm</a>	5 Recursos Web 8 Proyectos
Comisión Europea de Investigación	<a href="http://ec.europa.eu/research/index.cfm">http://ec.europa.eu/research/index.cfm</a>	
Instituto de Salud Carlos III	<a href="http://www.isci.es/Investigacion/Investigacion/convocatorias/tema_comu_proyectos_investigacion.jsp">www.isci.es/Investigacion/Investigacion/convocatorias/tema_comu_proyectos_investigacion.jsp</a>	
Proyectos de Investigación de la CAH	<a href="http://www.madrid.org/educacion/investigacion/comunicacion.htm">www.madrid.org/educacion/investigacion/comunicacion.htm</a>	
MEC (Proyectos I+D)	<a href="http://www.mec.es/Gencia/jsp/portalista.jsp?tema=proyectos&amp;id=21">www.mec.es/Gencia/jsp/portalista.jsp?tema=proyectos&amp;id=21</a>	
BUSQUEDAS DE PATENTES		
DEPATISnet	<a href="http://www.dpma.de/index.htm">www.dpma.de/index.htm</a>	6 BD 3 Patentes Grupos 42 Patentes Empresas
Esp@Bent	<a href="http://esp.espacenet.com/search?Pg1=9Z_ogl.eie.NacionFormGen&amp;Template=sp/EN/Home.htm">http://esp.espacenet.com/search?Pg1=9Z_ogl.eie.NacionFormGen&amp;Template=sp/EN/Home.htm</a>	
Japan Patent Office	<a href="http://www.jpco.go.jp/">www.jpco.go.jp/</a>	
CEPI	<a href="http://www.cepri.es/">www.cepri.es/</a>	
WIPO	<a href="http://www.intipat.org/firstsearch/firstsearch-adv.jsp">www.intipat.org/firstsearch/firstsearch-adv.jsp</a>	
USPTO	<a href="http://www.uspto.gov/patft/index.html">www.uspto.gov/patft/index.html</a>	
BUSCADORES GENERALES		
Scirus	<a href="http://www.scirus.com/bsr.aspx">www.scirus.com/bsr.aspx</a>	6 BD 102 Artículos revisados 60 Art. Referenciados
Scienc Direct	<a href="http://www.info-science-direct.com/content/">www.info-science-direct.com/content/</a>	
KARTCO	<a href="http://www.kartco.com/flash04.php?lang=en&amp;uk">www.kartco.com/flash04.php?lang=en&amp;uk</a>	
PubMed	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi">www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi</a>	
Blackwell Synergy	<a href="http://www.blackwell-synergy.com/">www.blackwell-synergy.com/</a>	
REDIRIS	<a href="http://www.rediris.es/buscquedas/">www.rediris.es/buscquedas/</a>	
BUSCADORES ESPECÍFICOS		
Ganome Browser	<a href="http://www.stemmler.org/redir.htm">www.stemmler.org/redir.htm</a>	3 BD 48 Artículos revisados 20 Art. Referenciados
CrealityGene	<a href="http://crealitygene.parc.edu/">http://crealitygene.parc.edu/</a>	
Organización Nutrigenómica Europea (NUGO)	<a href="http://www.nugoo.org">www.nugoo.org</a>	
TESIS		
TESEO	<a href="http://teseo.mec.es/tesis/jsp/tesis.jsp">http://teseo.mec.es/tesis/jsp/tesis.jsp</a>	6 BD 4 Tesis Revisadas
Citica (UKF)	<a href="http://citica.sira.uconn.edu/search.html?ci=07">http://citica.sira.uconn.edu/search.html?ci=07</a>	
Dart Europe	<a href="http://www.dart-europe.eu/About/">www.dart-europe.eu/About/</a>	
Cybertesis	<a href="http://www.cyber-tesis.net/">www.cyber-tesis.net/</a>	
Biblioteca Xansa TDX	<a href="http://digiboo-xam.greenata.es/R">http://digiboo-xam.greenata.es/R</a>	

Para conseguir esta visión, se ha realizado un proceso de detección, filtrado, valoración y análisis de la intensidad investigadora, realizando una revisión sobre las enfermedades monogénicas y multifactoriales que mayor interés han suscitado en la bibliografía científica. Recopilándose todos aquellos polimorfismos, mutaciones o variantes alélicas que estando influenciadas por la dieta predisponen o protegen frente a determinadas enfermedades.

Las enfermedades sobre las que se han recopilado y analizado la información elaborada en el informe se han estructurado de la siguiente manera:

#### 1. Enfermedades monogénicas

- Enfermedad Celiaca
- Hipercolesterolemia familiar
- Fenilcetonuria
- Galactosemia
- Intolerancia a la lactosa

## 2. Enfermedades multifactoriales

- Enfermedades Cardiovasculares
- Obesidad
- Diabetes tipo 2
- Cáncer
- Alteraciones en el metabolismo de los lípidos

## 3. Otras Enfermedades multifactoriales

- Osteoporosis
- Enfermedades neurodegenerativas

Además de esta estructura sobre una revisión de las distintas enfermedades, en el informe se presentan en forma de fichas (Figura 4) todos aquellos grupos de investigación que se han detectado y que se han considerado como más relevantes en el ámbito de la nutrigenómica. En estas fichas se podrán consultar diversos datos desde los datos de contacto hasta los proyectos y patentes de los que dispone el grupo.

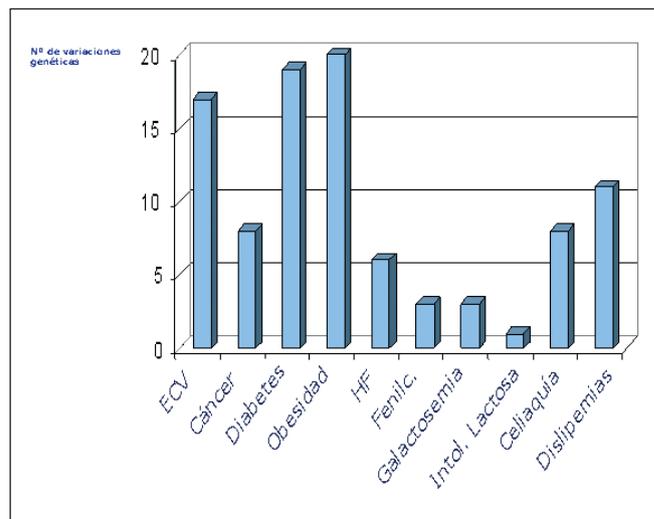
**Figura 4:** Imagen de la ficha modelo de grupos de investigación en Nutrigenómica.  
Fuente: Informe VT Panorama actual de la Nutrigenómica. (CIBT, Madri+d)

Unidad de Epidemiología Genética y Molecular	
<b>Dirección:</b>	Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Cátedras de la Alimentación, Toxicología y Medicina Legal Facultad de Medicina Universidad de Valencia Teléfono: 963 544 959 Fax: 963 544 954 Correo electrónico: dep.medicinapreventiva@uv.es
<b>Página web:</b>	www.uv.es/medprevent
<b>Persona de contacto:</b>	Dolores Corella Piquer Teléfono: 963 854 800 Correo electrónico: dolores.corella@uv.es
<b>Líneas de investigación relevantes</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Epidemiología Genómica de las Enfermedades Cardiovasculares.</li> <li>• Epidemiología Genómica de la Obesidad.</li> </ul>	

Tras llevarse a cabo una revisión de los fundamentos genéticos en cada una de las enfermedades mencionadas, se ha plasmado en el informe los datos obtenidos del proceso de vigilancia y se ha realizado un análisis comparativo de las enfermedades con mayor intensidad investigadora en el ámbito de la nutrigenómica. Según los datos del informe, el recuento de las variantes genéticas relacionadas con la dieta referenciadas en cada enfermedad, muestran que los esfuerzos en investigación en esta temática se centran principalmente en la **obesidad**, seguidos de estudios en **diabetes**, **ECV**, **metabolismo de los lípidos** y **cáncer**. (Figura 5)

Otra de las ideas que se pueden extraer del análisis del entorno científico es que parece necesario aumentar la **investigación básica** que interrelacione com-

**Figura 5:** Relación de las variantes genéticas vinculadas con la dieta que han sido detectadas en este informe en cada una de las enfermedades descritas.



pletamente las variantes genéticas, nutrientes y factores ambientales como para llegar al diseño de una alimentación totalmente personalizada. Esto significa que potencialmente se podrán precisar dietas en función de los requerimientos específicos de cada persona a partir de la información contenida en su genoma y permitirán determinar una nutrición óptima para las poblaciones con características comunes, grupos particulares o individuos.

Sin embargo, las investigaciones que analizan las interacciones nutriente-gen son relativamente recientes por este motivo la comunidad científica se encuentra lejos del **entendimiento completo** de los mecanismos responsables de la distinta respuesta dietética de cada individuo. No obstante, la nutrigenómica parece tener un **futuro prometedor** pues podría llegar a mejorar la salud y prevenir determinadas enfermedades relacionadas estrechamente con el tipo de alimentación y estilos de vida.

## 4. ESTUDIO DEL ENTORNO EMPRESARIAL

A la luz de las investigaciones, parece que la nutrigenómica no tendrá un camino fácil para desarrollar las distintas aplicaciones, aunque en la actualidad los distintos avances en las ciencias "ómicas" han aumentado la velocidad investigadora y como consecuencia han facilitado su **aplicación empresarial**.

Actualmente, desde el punto de vista de su aplicación a nivel poblacional, el entorno empresarial se encuentra en un claro **proceso de expansión y desarrollo**,

ganando impulso de forma progresiva, estimulado desde el ámbito de la investigación.

Este desarrollo sumado a la receptividad por parte de distintos sectores de los consumidores, ha sido aprovechado para la implantación de **nuevos modelos de negocio** que ofertan servicios de nutrigenómica apoyándose en las nuevas tecnologías de la información, mediante análisis genéticos y diseño de dietas personalizadas en función de un determinado perfil genético (existencia o no de distintos polimorfismos o mutaciones), sin la intervención del facultativo.

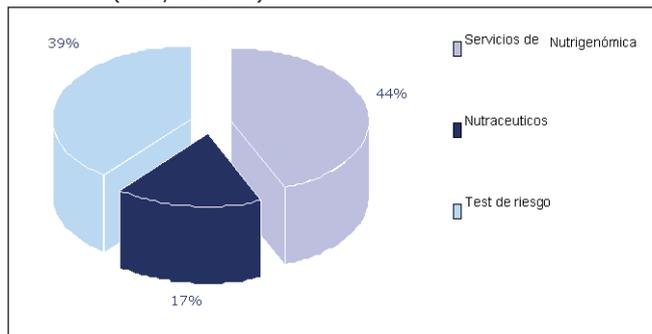
Por otro lado, existe un interés creciente por parte de las **compañías del sector alimentario** por no perder el tren de los "alimentos nutrigenómicos" para conseguir diversificar su cartera de productos previendo que este nicho de mercado crecerá de forma exponencial en los próximos años. Para ello las grandes multinacionales están realizando diversas inversiones en investigación, uniéndose a consorcios europeos, lo que deberá proporcionar el campo de visión adecuado para desarrollar este tipo de alimentos personalizados a cada perfil genético.

La Nutrigenómica todavía se encuentra en una fase incierta, definiéndose aún cómo será el desarrollo desde la investigación básica a las **aplicaciones comerciales**. Sin embargo, es evidente que el entorno empresarial parece que ha tomado ya posiciones para su aplicación comercial, mediante el desarrollo de distintos servicios y productos, fomentado por un floreciente mercado potencial y una actitud positiva de los consumidores hacia este tipo de servicios.

Para intentar definir y aclarar el estado actual del **entorno empresarial** el informe elaborado por el CIBT ha revisado más de 50 empresas, detectando y analizando finalmente **23 empresas** relacionadas directamente con servicios o productos nutrigenómicos para el consumidor final. De ellas **10** basan su negocio en servicios de nutrigenómica (recomendaciones dietéticas a partir de un perfil genético), **9** elaboran y distribuyen **test de riesgo** para distintas enfermedades y **4** basan su estrategia de mercado en el diseño de **productos o suplementos nutrigenómicos** o nutracéuticos. (Figura 6) (Tabla 1)

Cada una de las 23 empresas analizadas se presenta en el informe en forma de fichas estructuradas en las que se puede consultar una información más concreta de los productos y servicios que ofertan cada una de estas empresas así como los datos de contacto y los datos más relevantes. (Figura 7)

**Figura 6:** Servicios ofertados por las empresas de Nutrigenómica. Fuente: Informe VT Panorama actual de la Nutrigenómica. (CIBT, Madri+d)



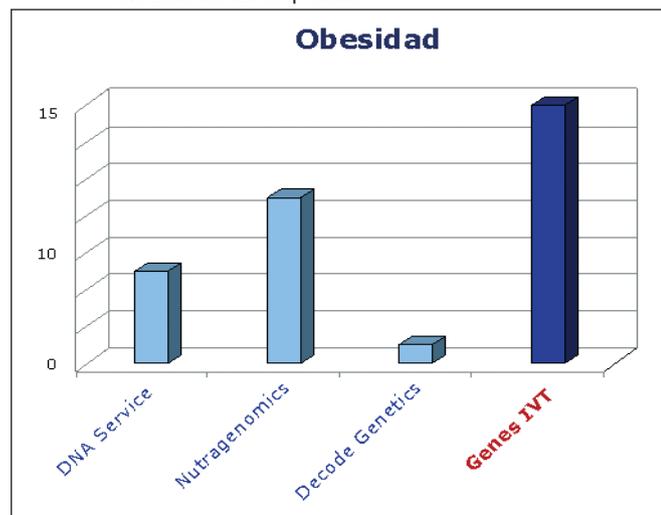
**Tabla 1:** Número de servicios y productos desarrollados por las empresas detectadas en el informe y su correspondiente desarrollo en propiedad industrial.

Empresas	Servicios de Nutrigenómica	Test de riesgo	Productos/Suplementos		Patentes
			Nutrigenómicos	Nutracéuticos	
Sciona	2				
Genelex	1				
DNA Service	1				
23andMe	1				
Nutrigenomics	1				
Sabater	1	2			
Decode Genetics	1				
Nutrametrix	1		1		
GeneticHealth		1			
Metaproteomics				10	
WellGen				1	2
DMS				6	21
Metagenics	1			69	1
Interleukin G.		3	1	13	3
Jurilab		1			13
Celera		1			
Progenika		1			1
IntegraGen		2			
Myriad		5			
Alphagenics	1		2		1
Lactest		1			
Navigenics	1				
SabioBBi		4			
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>21</b>	<b>4</b>	<b>99</b>	<b>42</b>

**Figura 7:** Imagen de la ficha modelo sobre datos de empresas con servicios de Nutrigenómica.



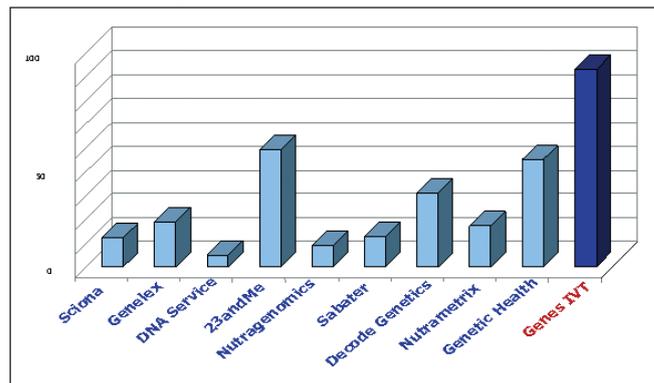
**Figura 9:** Comparativa entre el número de variantes genéticas y polimorfismos relacionados con la dieta y la obesidad que se han detectado en la bibliografía científica (Genes IVT) y las variaciones genéticas detectadas en los servicios nutrigenómicos de las empresas.



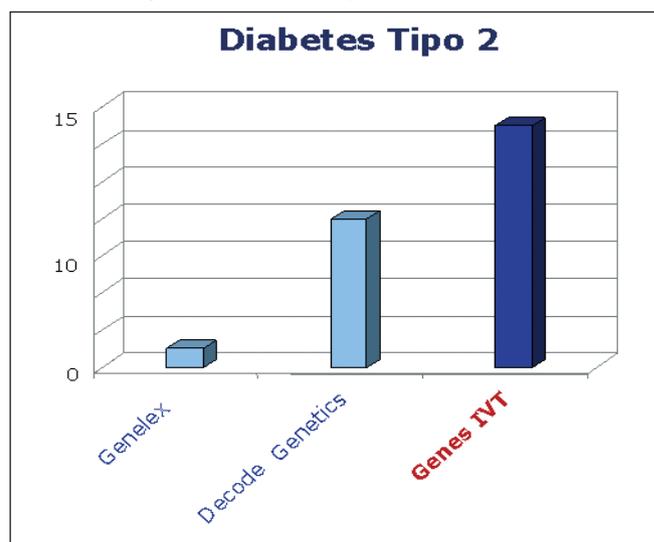
(\*) Las empresas que se han tenido en cuenta para la elaboración de estos gráficos son aquellas que hacen público en sus informaciones corporativas las variaciones genéticas que consideran en sus servicios nutrigenómicos y que se relacionan específicamente con cada una de las enfermedades descritas en el informe.

Una vez analizados los datos que suministran las empresas, en el informe se ha realizado un análisis para comprobar hasta qué punto se ajustan las empresas al potencial desarrollado por el entorno científico actual y hasta qué punto la aplicación de estos servicios a nivel poblacional utilizado como herramienta preventiva me-

**Figura 8:** Este gráfico representa la comparativa entre el número de variantes genéticas detectadas en el informe (Genes IVT) y las que detectan los servicios nutrigenómicos de las distintas empresas relacionadas con las enfermedades tratadas.



**Figura 10:** Comparativa entre el número de variantes genéticas y polimorfismos relacionados con la dieta y la DT2 que se han detectado en la bibliografía científica (Genes IVT) y las variaciones genéticas detectadas en los servicios nutrigenómicos de las empresas.

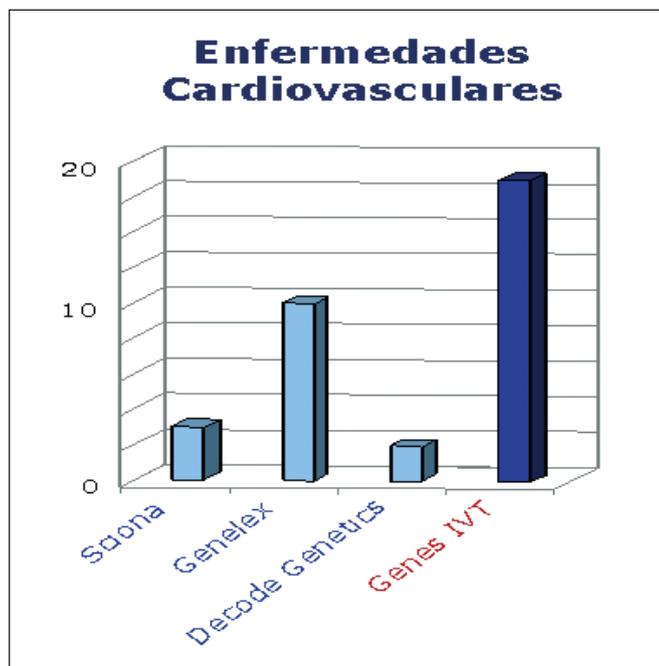


dante la nutrición personalizada puede considerarse efectivo.

Para obtener estos datos, se han analizado las **10 empresas\*** que suministran sus servicios directamente a los consumidores por representar aquellos modelos de negocio con influencia directa sobre la salud pública.

En el informe se muestra un análisis comparativo de las variantes genéticas relacionadas con la dieta que han sido detectadas mediante referencias bibliográficas recopiladas en el estudio y aquellas que son tenidas en cuenta por las distintas empresas en sus servicios nutrigenómicos. (Figura 8)

**Figura 11:** Comparativa entre el número de variantes genéticas y polimorfismos relacionados con la dieta y la ECV que se han detectado en la bibliografía científica (Genes IVT) y las variaciones genéticas detectadas en los servicios nutrigenómicos de las empresas.



Como se puede comprobar en la Figura 11, las empresas analizan **menor número de variantes genéticas y SNPs** que los detectados en la bibliografía científica.

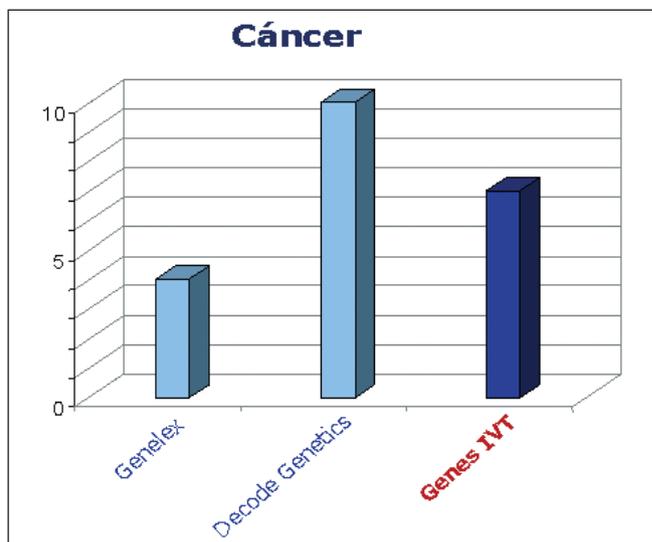
Si realizamos este análisis fragmentándolo para cada una de las enfermedades se comprueba que los resultados se manifiestan con la misma tendencia. (Figuras 9 a 12)

En el caso concreto del cáncer, para realizar esta comparación y debido a la heterogeneidad de las variantes genéticas y la falta de claridad en la información de las empresas no se han podido restringir los datos a aquellas variantes genéticas interrelacionadas con la dieta, mientras que los genes detectados por la bibliografía científica si realizan esta restricción. Este dato explicaría el mayor número de variantes genéticas que detecta la empresa Decode G. con respecto a los hallados en el entorno científico.

## 5. CONCLUSIONES

A pesar de este auge comercial y empresarial alrededor de la nutrigenómica parece necesario atemperarlo con una cierta **dosis de precaución**, ya que hasta la fecha todavía son **escasos los estudios** que respal-

**Figura 12:** Comparativa entre el número de variantes genéticas y polimorfismos relacionados con la dieta y el cáncer que se han detectado en la bibliografía científica (Genes IVT) y las variaciones genéticas detectadas en los servicios nutrigenómicos de las empresas.



dan la validez clínica de marcadores nutrigenéticos específicos y sus diversas interrelaciones tanto con otros genes como con factores ambientales. Desenmarañar toda esta complejidad de factores llevará un tiempo, además de un considerable **esfuerzo en investigación**. Por tanto trasladar esta información al consumidor en la actualidad parece cuanto menos aventurado.

Según los expertos, en la **aplicación de la nutrigenómica** parecen distinguirse dos niveles diferentes que se desarrollan a distintos ritmos. Por un lado, su aplicación en el ámbito **clínico**, utilizado como una herramienta para el tratamiento de distintas enfermedades, en el que existe la posibilidad de desarrollar un historial clínico muy personalizado y mantener al enfermo en condiciones controladas. En este contexto, la nutrigenómica parece que se desarrollará en un plazo más corto.

Sin embargo, su aplicación **poblacional**, utilizado como herramienta preventiva mediante la nutrición personalizada será algo más complejo y supondrá plazos mucho más amplios.

A tenor de los datos, todavía queda por **recorrer un amplio camino** concentrado en el entorno científico antes de confluir con el entorno empresarial para desarrollar aplicaciones verdaderamente fiables y conseguir una influencia determinante en la Salud Pública. Según distintos expertos, este ámbito del conocimiento y sus aplicaciones sucesivas se irán madurando en los próximos **5-10 años**.

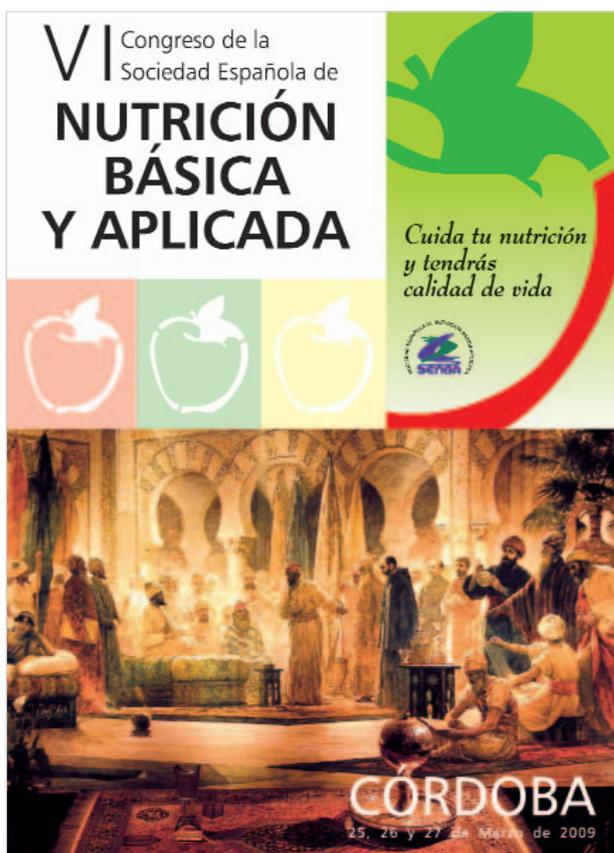
## Agradecimientos

El **Círculo de Innovación en Biotecnología** (CIBT) del Sistema madri+d, se enmarca dentro del IV Plan Regional de Investigación Científica e Innovación Tecnológica (IV PRICIT). El CIBT es una iniciativa de la Dirección General de Universidades e Investigación de la Comunidad de Madrid en el que participa el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, las Universidades Autónoma y Complutense de Madrid así como el Parque Científico de Madrid. Puede consultarse en informe completo en la página [www.madrimasd.org/biotecnologia](http://www.madrimasd.org/biotecnologia)

Los autores agradecen los consejos y correcciones del informe original a la Dr<sup>a</sup>. D<sup>a</sup> Dolores Corella (Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia); a los técnicos del CIBT que han participado y revisado el informe: Esther García y Cecilia González, así como especialmente a los miembros del Comité científico de la SEDCA, doctores Jesús Román Martínez, Antonio Villarino, Carlos de Arpe y Lucía Serrano.

## Referencias bibliográficas

1. Ordovás JM, Carmena R, Corella D. Nutrigenómica. Fundación Medicina y Humanidades Médicas. *Colección de Monografías Humanitas 9*: 21-44.
2. Key TJ, Thorogood M, Appleby PN, Burr ML. Dietary habits and mortality in 11000 vegetarians and health conscious people: results of a 17 year follow up. *BMJ 1996*; 313: 775-79.
3. Edmundo E, Durán C. Genómica Nutricional: el estudio de la interacción entre genes y la nutrición humana. *Rev Fac Cien Med (Quito) 2007*; 32 (1).
4. Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias Ciudad Universitaria El Tambo, Huancayo (Perú). "El futuro cercano: Novedades en Nutrición: genes, grelina, desnutrición". [en línea]. Disponible en web: [www.uncp.edu.pe](http://www.uncp.edu.pe) [consulta: 12.12.2007]
5. Key TJ, Fraser GE, Thorogood M, et al. Mortality from a collaborative analysis of 5 prospective studies. *Am J Clin Nutr 1999*; 70 (suppl): 516-24.
6. Maldonado JC, Estévez E. Nutrición, respuesta a la dieta e influencia genética. Centro de Biomedicina. *Principios básicos de Nutrigenómica 2005*; 83-90.
7. Hines LM, Rimm EB. Moderate alcohol consumption and coronary heart disease: a review. *Postgrad Med J 2001*; 77: 747-52.
8. Gómez Ayala A. Nutrigenómica y nutrigenética. La relación entre la alimentación, la salud y la genómica. *Offarm 2007*; Vol. 26. núm. 4.
9. Ordovás JM, Carmena R, Corella D. Nutrigenética. Fundación Medicina y Humanidades Médicas. *Colección de Monografías Humanitas 9*: 3-19.
10. Sánchez Muñiz F, Jiménez Colmenero F, Olmedilla Alonso B. Derivados cárnicos funcionales: estrategias y perspectivas. *Fundación Española de la Nutrición (F.E.N.)*. ISBN: 84-930544-6-1.
11. Almendro V, Gascón P. Nutrigenómica y cáncer. Fundación medicina y humanidades médicas. *Colección de monografías Humanitas 9*: 139-152.
12. Marti A, Moreno-Aliaga MJ, Zulet MA, Martínez JA. Avances en nutrición molecular: nutrigenómica y/o nutrigenética. *Nutrición Hospitalaria 2005*; 20: 157-164.
13. Muñoz Ruiz E. Colección de Monografías Humanitas. Fundación Medicina y Humanidades Médicas. *Nutrigenética y Nutrigenómica 9*: 71-85.
14. Ordovás JM, Corella D. Nutritional genomics. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. 2004*; 5:71-118.



**VI Congreso de la Sociedad Española de Nutrición Básica y Aplicada**  
*Córdoba, 25, 26 y 27 de marzo de 2009*

## Junta Directiva

**Presidente:**

D. Miguel Angel Gassull Duro

**Vicepresidente:**

D. Alberto Miján de la Torre

**Secretario:**

D. Carlos Iglesias Rosado

**Tesorera:**

D<sup>a</sup>. Pilar Riobó Serván

**Vocales:**

D. Antonio Zarzuelo Zurita (Área Básica)

D. Luis Miguel Luengo (Área Clínica)

D<sup>a</sup>. Iva Márquez López (Área de Dietética)

D<sup>a</sup>. Paz Redondo del Río (Área de Salud Pública)

## Comité Organizador

**Presidente:**

D. Francisco Pérez Jiménez

**Secretario:**

D. José López Miranda

**Tesorero:**

D. Fernando López Segura

**Vocales:**

D. Manuel Ángel Amaro López

D. José Chamorro Quirós

D. Juan Criado García

D. Javier Delgado Lista

D. Enrique Galán Dorado

D. Pedro Pablo García Luna

D. Rafael Guerrero Pavón

D<sup>a</sup>. María José Molina Puertas

D. Rafael Moreno Rojas

D. Pablo Pérez Martínez

D. Jesús Román Martínez Álvarez

## Comité Científico

D. Eduard Cabré Gelada

D. Alberto Miján de la Torre

D. Jordi Salas Salvadó

D<sup>a</sup>. Consuelo López Nomdedeu

D<sup>a</sup>. Mar Ruperto López

D. Antonio Pérez de la Cruz

D. Pedro Benito López

D. Francisco Fuentes Jiménez

D. Juan Antonio Paniagua González

D. Juan Ruano Montilla

## **INSTITUTO DE SALUD CARLOS III ESCUELA NACIONAL DE SANIDAD**

### **DIPLOMA DE ESPECIALIZACIÓN EN ALIMENTACIÓN Y NUTRICION APLICADAS Del 3 de febrero al 18 de diciembre de 2009**

Nº horas: 180.

Precio de matrícula: 900 €

Horario: Mañana y tarde.

Nº de plazas: 30

Fecha de Preinscripción: 23 de enero de 2009

#### **Objetivos:**

- Actualizar en contenidos generales sobre Alimentación y Nutrición que favorezcan una dieta saludable.
- Abordar la alimentación y nutrición desde una perspectiva multidisciplinar y de salud pública.
- Conseguir una información actualizada de los principales procesos tecnológicos que sufren los alimentos.
- Conocer diferentes metodologías para el análisis de la situación nutricional de una población, y los criterios para el diseño de programas comunitarios de alimentación.
- Capacitar en el análisis de los consumos individuales y colectivos y en el diseño de menús para colectivos.
- Actualizar en contenidos específicos sobre interacciones alimentos y medicamentos, pérdidas en el valor nutricional, aspectos sobre aditivos alimentarios, productos transgénicos, etc.

#### **Dirigido a:**

Licenciados en Ciencias Biomédicas (Farmacéuticos, Biólogos, Veterinarios, Médicos) así como otros titulados universitarios cuya experiencia y conocimientos previos sean considerados oportunos en el proceso de selección.

#### **Estructura y contenido del curso:**

Es un proceso de formación teórico práctico. Se distribuye de manera discontinua (según fechas que se especifican más adelante). Consta de dos fases. La prime-

ra es presencial, distribuida en 5 módulos de 30 horas de duración, cuyos contenidos son predominantemente teóricos, con algunas actividades prácticas de demostración. Tres módulos son obligatorios y dos opcionales a elegir entre cuatro.

#### **Obligatorios (3):**

- **"Alimentación, Salud y Consumo"**  
Del 3 al 6 de febrero 2009.
- **"Alimentación Comunitaria"**  
Del 3 al 6 de marzo 2009.
- **"Fundamentos de Higiene y Seguridad en los Alimentos"**  
Del 21 al 24 de abril 2009.

#### **Electivos (elegir 2):**

- **"Antropología de la Alimentación"**  
Del 19 al 22 de mayo 2009.
- **"Tecnología de los Alimentos y Valor Nutricional"**  
Del 16 al 19 de junio 2009.
- **"La Nueva Biotecnología de Alimentos y Productos Transgénicos"**  
Del 24 al 27 de marzo 2009.
- **"La Alimentación en Diversas Etapas de la Vida"**  
Del 21 al 25 de septiembre 2009.
- **"Aditivos alimentarios"**  
Del 20 al 23 de octubre 2009.
- **"Interacciones Alimentos Medicamentos"**  
Del 11 al 20 de noviembre 2009.

## JORNADA SOBRE COMPOSICIÓN CORPORAL: NUEVAS TECNOLOGÍAS Y SU APLICACIÓN EN LA NUTRICIÓN HUMANA Y EL DEPORTE



### Antecedentes y metodología

En colaboración con la Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación (SEDCA), el Grupo Epinut de la UCM propone una jornada teórico-práctica sobre composición corporal. El objetivo principal es mostrar a los profesionales de la nutrición humana y del deporte tanto los últimos avances de la investigación en este campo como las técnicas y analizadores más apropiados para el ejercicio clínico, la realización de estudios epidemiológicos o el trabajo en el ámbito deportivo.

- **Exposición del marco teórico: aspectos genéticos y ambientales que determinan la composición corporal. Revisión de los modelos, métodos y técnicas. Orientaciones prácticas.**
- **Presentación y debate de las comunicaciones presentadas en Mesas Redondas coordinadas por especialistas en el tema.**
- **Taller práctico: aprendizaje y manejo de analizadores BIA y NIR. Interpretación de resultados.**

### Comité Científico

Margarita CARMENTE (Universidad Autónoma de Madrid)  
Pilar MONTERO (Universidad Autónoma de Madrid)  
Consuelo PRADO (Universidad Autónoma de Madrid)  
Esther REBATO (Universidad del País Vasco)  
Jordi PORTA (Universidad de Barcelona)  
Gregorio VARELA (Universidad San Pablo CEU)  
Grupo EPINUT (M. González- Montero, M.S. Mesa, S. Moreno, J.L. Pacheco, J.F. Romero-Collazos, A. Villarino)

### Comité Organizador

**M<sup>a</sup> Dolores Marrodán Serrano**  
Facultad de Biología. UCM  
**M<sup>a</sup> Dolores Cabañas**  
Facultad de Medicina. UCM  
**Jesús Román Martínez**  
Sociedad española de dietética

## PROGRAMA

### • Viernes 6 de marzo (mañana).

9.00 h. Acreditación y entrega de la documentación.

#### 9.30 - 11.30 h. **Módulo teórico: Interacción de los genes y el ambiente.**

Breve panorama de los métodos analíticos. Guía crítica de los monitores BIA actualmente en el mercado. Estándares y concordancia entre las diversas técnicas de composición corporal.

11.00 h. Descanso

11.30 - 14.00 h. **Comunicaciones libres.** En función de los resúmenes recibidos, se organizarán las mesas de exposición y debate, presentadas y coordinadas por los miembros del Comité Científico.

#### \* Áreas de interés:

- Composición corporal y biodiversidad de las poblaciones humanas.
- Métodos de composición corporal aplicables en edad pediátrica
- Aplicaciones en rehabilitación y seguimiento de deportistas de alta competición.
- Aplicaciones en nutrición clínica y medicina estética
- Temas libres.

### • Viernes 6 de marzo (tarde).

16.00 – 19.00 h. **Módulo Práctico.**

**POR RAZONES DE ESPACIO, SE LIMITA LA PARTICIPACIÓN EN ESTE MÓDULO PRÁCTICO A 30 INSCRITOS SEGÚN RIGUROSO ORDEN DE INSCRIPCIÓN.**

- Técnicas de bioimpedancia bipolar y tetrapolar.
- Análisis total y segmentario de los componentes corporales y nivel de hidratación con tecnología BIA multifrecuencia.
- Análisis de componentes corporales por interactancia de infrarrojos(NIR).
- Interpretación de resultados de casos prácticos.

## Inscripciones

### Cuotas de Inscripción

	<u>sesión teórica</u>	<u>sesión práctica</u>
Libre profesionales	20 €	20 €
Asociados SEDCA	20 €	GRATUITA
Alumnos universitarios	10 €	10 €
Presentando comunicación	<b>GRATUITA</b>	

### Forma de pago

Transferencia c/c 2100 3781 11 2200011708

### Envío de inscripciones

Formulario disponible en la web: [www.nutrición.org](http://www.nutrición.org) [info@nutricion.org](mailto:info@nutricion.org)

**SE ENTREGARÁ CERTIFICADO DE ASISTENCIA.**

**- SOLICITADO 1 CRÉDITO DE LIBRE ELECCIÓN PARA ALUMNOS DE LA U.C.M. -**

## Características

Es la publicación científica oficial de la Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación (SEDCA). La Revista publica trabajos en español, portugués e inglés sobre temas del ámbito de la alimentación, la nutrición y la dietética. Exclusivamente se aceptan originales que no hayan sido publicados, ni estén siendo evaluados para su publicación, en cualquier otra revista sin importar el idioma de la misma.

## Modalidades de publicación

Se admitirán originales que puedan adscribirse a las siguientes modalidades y tipos:

- Artículos originales. Descripción completa de una investigación básica o clínica que proporcione información suficiente para permitir una valoración crítica y rigurosa. La extensión máxima será de 12 páginas conteniendo un máximo de 6 tablas y 6 figuras.
- Colaboraciones cortas. Se tratará de artículos originales de menor entidad cuya extensión no supere las 6 páginas, 3 tablas y 3 figuras.
- Revisiones. Serán revisiones de publicaciones anteriores relacionadas con un tema de interés que contengan un análisis crítico que permita obtener conclusiones. Las revisiones normalmente serán solicitadas directamente por los Editores a sus autores y el texto tendrá que tener una extensión máxima de 12 páginas, 6 tablas y 10 figuras.
- Cartas a la revista: relacionadas con artículos aparecidos en la publicación. Su extensión máxima será de 2 páginas.
- Otros. Adicionalmente, se admitirán para su publicación noticias, informes, conferencias, cursos, convocatorias de reuniones y congresos así como de premios y becas. La extensión y forma de presentación de los textos recibidos para este apartado estarán sujetos sin notificación previa a las modificaciones que el Comité Editorial estime convenientes.

## Elaboración de originales

La preparación del manuscrito original deberá de hacerse de acuerdo las Normas y Requisitos de Uniformidad del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (versión oficial en inglés accesible en la dirección electrónica: <http://www.icmje.org>. Para la traducción en español puede revisarse el enlace URL: <http://www.metodo.uab.es/enlaces.htm>).

En la web de la revista (<http://www.nutricion.org>) están disponibles las presentes **Normas de publicación**. Para la correcta recepción de los originales deberá incluirse siempre:

## 1. Carta de presentación

Deberá hacer constar en la misma:

- Tipo de artículo que se remite
- Declaración de que es un texto original y no se encuentra en proceso de evaluación por otra revista.
- Cualquier tipo de conflicto de intereses o la existencia de implicaciones económicas.
- La cesión a la Revista de los derechos exclusivos para editar, publicar, reproducir, distribuir copias, preparar trabajos derivados en papel, electrónicos o multimedia e incluir el artículo en índices nacionales e internacionales o bases de datos.
- Los trabajos con más de un autor deben ser leídos y aprobados por todos los firmantes.
- Los autores deben declarar como propias las figuras, dibujos, gráficos, ilustraciones o fotografías incorporadas en el texto. En caso contrario, deberán obtener y aportar autorización previa para su publicación y, en todo caso, siempre que se pueda identificar a personas.
- Datos de contacto del autor principal: nombre completo, dirección postal y electrónica, teléfono e institución.
- Si se tratase de estudios realizados en seres humanos, debe enunciarse el cumplimiento de las normas éticas del Comité de Investigación o de Ensayos Clínicos correspondiente y de la Declaración de Helsinki vigente, disponible en español en la URL: <http://www.metodo.uab.es/enlaces.htm>

## 2. Título

Se indicarán, en página independiente y en este orden, los siguientes datos:

- Título del artículo en español o portugués y en inglés.
- Apellidos y nombre de todos los autores, separados entre sí por una coma. Se aconseja que figure un máximo de ocho autores. Mediante números arábigos, en superíndice, se relacionará a cada autor, si procede, con el nombre de la institución a la que pertenecen.
- Dirección de correo-e que desean hacer constar como contacto en la publicación.

### 3. Resumen

Deberá ser comprensible por sí mismo sin contener citas bibliográficas. Será redactado obligatoriamente en los siguientes idiomas: a) español ó portugués y b) inglés, respetando en todo caso la estructura del trabajo remitido:

- Introducción
- Objetivos
- Métodos
- Resultados
- Discusión
- Conclusiones

### 4. Palabras clave

Debe incluirse al final de resumen un máximo de 5 palabras clave que coincidirán con los Descriptores del Medical Subjects Headings (MeSH) accesible en la URL siguiente:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=mesh>

### 5. Abreviaturas

Se incluirá un listado de las abreviaturas presentes en el trabajo con su correspondiente explicación.

### 6. Texto

De acuerdo a la estructura siguiente:

- Introducción
- Objetivos
- Métodos
- Resultados
- Discusión
- Conclusiones
- Bibliografía

Es necesario especificar, en la metodología, el diseño, la población estudiada, los sistemas estadísticos y cualesquiera otros datos necesarios para la comprensión perfecta del trabajo.

### 7. Agradecimientos

En esta sección se deben citar las ayudas materiales y económicas, de todo tipo, recibidas señalando la entidad o empresa que las facilitó. Estas menciones deben de ser conocidas y aceptadas para su inclusión en estos "agradecimientos".

### 8. Bibliografía

Tienen que cumplir los Requisitos de Uniformidad del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas, como se ha indicado anteriormente.

Las referencias bibliográficas se ordenarán y numerarán por orden de aparición en el texto, identificándose mediante números arábigos en superíndice. Para citar las revistas médicas se utilizarán las abreviaturas incluidas en el Journals Database, disponible en la URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=journals>

### 9. Figuras y fotografías

Deben elaborarse teniendo en cuenta las siguientes indicaciones:

Se realizarán utilizando programas informáticos adecuados que garanticen una buena reproducción (300 píxeles de resolución por pulgada) en formato BMP, TIF o JPG. No se admiten ficheros de Power-point ni similares. Los gráficos y las figuras serán enviados en blanco y negro o en tonos de grises.

### Envío de originales

Los trabajos se remitirán por vía electrónica a través de la dirección de correo: **revista@nutricion.org** o utilizando la página web de la revista: **www.nutricion.org**

### Evaluación de originales

Los trabajos remitidos para publicación serán evaluados mediante el método de la **dobles revisión por pares**. El autor principal podrá proponer revisores que no estén vinculados al original remitido.

# nutrición clínica

---

## y Dietética Hospitalaria

