

UNIVERSIDAD DE VALENCIA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**Tubo digestivo e inflamación en la insuficiencia
cardiaca. Aspectos fisiopatológicos e implicaciones a
nivel pronóstico y terapéutico.**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Anna Mollar Fernández

Licenciada en Farmacia

Dirigida por:

Prof. Dr. Julio Núñez Villota

Prof. Dr. Juan Sanchis Forés

Prof. Dr. Miguel Mínguez Pérez

Febrero, 2017

UNIVERSIDAD DE VALENCIA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



Don Juan Sanchis Forés, Catedrático de Medicina de la Universidad de Valencia, Don Julio Núñez Villota, Profesor Asociado Asistencial del departamento de Medicina de la Universidad de Valencia y Don Miguel Mínguez Pérez, Profesor titular del departamento de Medicina de la Universidad de Valencia

CERTIFICAN: Que la presente tesis doctoral **“Tubo digestivo e inflamación en la insuficiencia cardiaca. Aspectos fisiopatológicos. Implicaciones a nivel pronóstico y terapéutico.”** que presenta Doña Anna Mollar Fernández para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Valencia, ha sido realizada bajo su dirección y que se encuentra finalizada y lista para su presentación a fin de que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Fdo Juan Sanchis Forés

Fdo Julio Núñez Villota

Fdo Miguén Mínguez Pérez

Y que para así conste, firman la presente en Valencia, a 27 de febrero de 2017.

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis Juan Sanchis, Julio Núñez y Miguel Mínguez. A Juan, gracias por poner este proyecto en marcha y por el apoyo recibido durante todo el proceso. A Miguel, gracias por todas sus directrices. A Julio, quisiera agradecerle su enorme implicación en este trabajo, en la orientación, supervisión y continuo seguimiento. Gracias sobre todo por tu interés en mi formación. Al mismo tiempo, ya que se me permiten estas líneas, gracias también por transmitir esa energía, cariño y motivación, quien lo conozca sabrá de lo que estoy hablando.

A Gema por estar siempre dispuesta a echarnos a todos una mano (una muy valiosa mano).

A mi compañera de batalla, mi día a día, mi amiga. Podría dedicarle una hoja entera. Gracias Amparo por darme soluciones incluso antes de que exista el problema.

A Mapi, mi codo con codo, su ayuda ha sido fundamental. Gracias por hacerlo todo fácil.

A Alba, Carme, Rebeca, María, Blanca, Isa, Paula, Sara y Patri, las de siempre y las que parecen de siempre. Gracias. También habéis seguido el proceso de muy cerca.

A mis padres, siempre dispuestos a cualquier cosa, y a mi hermana, mi compañera desde los 5.

A Dani. Un millón de gracias por tu paciencia y comprensión. Gracias por hacer estos días más felices.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	7
LISTADO DE FIGURAS Y TABLAS	9
1. INTRODUCCIÓN	19
1.1. Conceptos generales.....	19
1.2. Epidemiología.....	19
1.3. Fisiopatología de la IC	20
1.3.1. Generalidades	20
1.3.2. Factores fisiopatológicos implicados en la progresión de la enfermedad ...	22
1.3.2.1. Sobrecarga, adaptación hemodinámica y remodelado patológico	22
1.3.2.2. Sistema nervioso simpático, y sistema neurohormonal	22
1.3.2.3. Congestión sistémica	23
1.3.2.4. Respuesta inflamatoria sistémica en la IC.....	24
1.4. El papel del intestino en la IC.....	30
1.4.1. Generalidades	30
1.4.2. Hipótesis de la translocación bacteriana	32
1.4.3. Microbiota bacteriana.....	37
1.4.4. SBID	38
1.4.4.1. Prevalencia del SBID	39
1.4.4.2. Fisiopatología del SBID	39

1.4.4.3. Síntomas asociados al SBID	41
1.4.4.4. Diagnóstico de SBID	41
1.4.5. Relación entre el SBID y la IC	47
2. HIPÓTESIS DE TRABAJO	51
3. OBJETIVOS	55
3.1. Objetivo primario.....	55
3.2. Objetivos secundarios.....	55
4. MATERIALES Y MÉTODOS	59
4.1. Diseño del estudio	59
4.2. Población de estudio	59
4.3. Procedimientos	61
4.3.1. Selección	61
4.3.2. Análisis clínicos y constantes vitales	62
4.3.3. Estimación del SBID mediante el test del aliento	62
4.3.4. Datos clínicos	62
4.4. Métodos	63
4.4.1. Muestras de sangre.....	63
4.4.2. Parámetros bioquímicos	63
4.4.2.1. PCT	63
4.4.2.2. Citoquinas	64
4.4.3. Test del aliento para la determinación de SBID.....	66

4.5. Seguimiento del paciente y registro de episodios adversos clínicos.....	68
4.5.1. Adjudicación de episodios adversos	69
4.5.1.1. Mortalidad	69
4.5.1.2. Ingresos	69
4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	69
4.6.1. Cálculo del tamaño de la muestra	69
4.6.2. Análisis descriptivo.....	70
4.6.3. SBID y pronóstico	71
4.6.3.1. Tiempo hasta el primer episodio adverso	71
4.6.3.2. Hospitalizaciones recurrentes	71
4.6.3.3. Predictores independientes de AUC-H ₂ , AUC-CH ₄ y AUC-H ₂ -CH ₄	72
5. RESULTADOS.....	75
5.1. Características del grupo de estudio	75
5.2. Análisis descriptivo de acuerdo a la concentración de H ₂ y CH ₄	78
5.2.1. Concentración de H ₂	78
5.2.2. Concentración de CH ₄	80
5.2.3. Prevalencia de SBID.....	82
5.3. H ₂ y CH ₄ en el aire espirado y episodios adversos (Objetivo primario).....	83
5.3.1. Episodio adverso combinado de muerte o ingreso por cualquier causa	83
5.3.1.1. H ₂ y el episodio adverso combinado de muerte o ingreso por cualquier causa	83
5.3.1.2. CH ₄ y el episodio adverso combinado de muerte o ingreso por cualquier causa	85

5.3.1.3. H ₂ y CH ₄ total acumulado y el episodio adverso combinado de muerte o ingreso por cualquier causa.....	87
5.3.1.4. SBID y el episodio adverso combinado de muerte o ingreso por cualquier causa	88
5.3.2. Episodio adverso combinado de muerte, ingreso por todas las causas o visitas a urgencias	89
5.3.2.1. Relación entre el H ₂ y el episodio adverso combinado de muerte, ingreso por todas las causas o visitas a urgencias.....	89
5.3.2.2. Relación entre el CH ₄ y el episodio adverso combinado de muerte, ingreso por todas las causas o visitas a urgencias.....	92
5.3.2.3. Relación entre el H ₂ y el CH ₄ total acumulado y el episodio adverso combinado de muerte, ingreso por todas las causas o visita a urgencias	93
5.3.2.4. SBID y el episodio adverso combinado de muerte, ingreso por cualquier causa o visitas al servicio de urgencias.....	94
5.3.3. Mortalidad	95
5.3.3.1. H ₂ y mortalidad	95
5.3.3.2. CH ₄ y mortalidad.....	97
5.3.3.3. Relación entre el H ₂ y CH ₄ acumulado con la mortalidad	99
5.3.3.4. SBID y mortalidad	100
5.3.4. Episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por IC aguda	101
5.3.4.1. H ₂ y el episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por IC aguda	101
5.3.4.2. CH ₄ y episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por IC aguda	103
5.3.4.3. H ₂ Y CH ₄ total acumulado y el episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por IC aguda	104
5.3.4.4. SBID y el episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por IC aguda	105

5.4. Hospitalizaciones recurrentes	106
5.4.1. Ingresos por todas las causas.....	106
5.4.1.1. Relación de los ingresos por todas las causas con el AUC-H ₂	107
5.4.1.2. Relación de los ingresos por todas las causas con el AUC-CH ₄	108
5.4.1.3. Relación del AUC-H ₂ -CH ₄ y los ingresos por todas las causas	110
5.4.2. Ingresos por IC aguda.....	111
5.4.2.1. Relación entre el AUC-H ₂ y los ingresos por IC aguda.....	112
5.4.2.2. Relación entre el AUC-CH ₄ y los ingresos por IC aguda.....	113
5.4.2.3. Relación entre el AUC-H ₂ -CH ₄ y los ingresos por IC aguda.....	114
5.5. Parámetros predictores de AUC-H ₂ y AUC-CH ₄	116
5.5.1. Predictores de AUC-H ₂	116
5.5.1.1. Correlación de AUC-H ₂ con parámetros inflamatorios.....	116
5.5.1.2. Correlación de AUC-H ₂ con parámetros de severidad de la enfermedad..	117
5.5.2. Determinantes clínicos de AUC-H ₂	119
5.5.3. Predictores de AUC-CH ₄	122
5.5.3.1. Correlación de AUC-CH ₄ con parámetros inflamatorios	122
5.5.3.2. Relación entre AUC-CH ₄ y los parámetros de severidad en la IC	124
5.5.4. Determinantes clínicos relacionados con el AUC-CH ₄	125
6. DISCUSIÓN	129
6.1. Disbiosis intestinal y enfermedad.....	130
6.1.1. Disbiosis y trastornos gastrointestinales	131
6.1.2. Disbiosis y enfermedades metabólicas.....	132

6.1.3. Disbiosis relacionadas con afecciones alérgicas	133
6.1.4. Disbiosis relacionadas con alteraciones del sistema nervioso central	134
6.2. SBID	135
6.2.1. SBID y patología	135
6.2.2. SBID: el test del aliento	138
Variabilidad en la preparación a la prueba	140
Variabilidad en la metodología.....	140
Variabilidad en la interpretación de los resultados	142
6.3. Interacciones cardio-intestinales en enfermedades cardiovasculares	143
6.4. Interacciones cardio-intestinales en la IC.....	144
6.5. SBID y fisiopatología de la IC.....	152
6.6. Implicaciones clínicas.....	156
6.7. Direcciones futuras	157
6.8. Limitaciones	158
7. CONCLUSIONES.....	163
8. BIBLIOGRAFÍA	167

ABREVIATURAS

ADE	Ancho de distribución eritrocitario
AUC	Área bajo la curva concentración-tiempo
AUC-CH₄	Área bajo la curva concentración de metano-tiempo
AUC-H₂	Área bajo la curva concentración de hidrógeno-tiempo
AUC-H₂-CH₄	Área bajo la curva concentración hidrógeno y metano- tiempo
CFU	Unidades formadoras de colonias
CA125	Antígeno carbohidrato 125
CH₄	Metano
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECV	Enfermedad cardiovascular
ECG	Electrocardiograma
FEVI	Fracción de eyección del ventrículo izquierdo
FGE	Filtrado glomerular estimado
GGT	Gamma-glutamyl transpeptidasa
GOT	Glutamato-oxalacetato transaminasa
GPT	Transaminasa glutámico-pirúvica
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HR	Hazard Ratios
HTA	Hipertensión arterial
H₂	Hidrógeno
IC	Insuficiencia cardiaca
ICAM-1	Moléculas de adhesión intracelular -1
IL	Interleuquina

IRR	Incidence rate ratio
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LPS	Lipopolisacárido
NT-proBNP	Fragmento aminoterminal del péptido natriurético tipo B
PAD	Presión auricular diastólica
PAPS	Presión arterial pulmonar sistólica
PCR	Proteína C reactiva
PCT	Procalcitonina
p25	Percentil 25
p75	Percentil 75
SBID	Sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado
SCI	Síndrome del colon irritable
SD	Desviación estándar
TMA	Trimetilamina
TMAO	Trimetilamina-N-óxido
TAPSE	Desplazamiento sistólico del anillo tricúspide
TDE	Tiempo de desaceleración de la onda ETDE
VCAM-1	Moléculas de adhesión celular vascular-1
VD	Ventrículo derecho

LISTADO DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS

Figura 1. Factores implicados en la fisiopatología de la insuficiencia cardiaca.

Figura 2. Alteraciones hemodinámicas implicadas en la disfunción del ventrículo derecho.

Figura 3. Anatomía vascular del tracto gastrointestinal.

Figura 4. Barrera epitelial de la mucosa intestinal: rutas de transporte no mediado.

Figura 5. Microcirculación intestinal.

Figura 6. Microcirculación esplácnica en situaciones de bajo flujo sanguíneo.

Figura 7. Mecanismo de liberación de citoquinas pro-inflamatorias por el lipopolisacárido bacteriano.

Figura 8. Resultado negativo en el test de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Figura 9. Gráfico de concentración de hidrógeno y metano (ppm). Resultado negativo en el test de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Figura 10. Resultado positivo en el test de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Figura 11. Gráfico de concentración de hidrógeno y metano (ppm). Resultado negativo en el test de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Figura 12. Flujo de pacientes incluidos en el estudio.

Figura 13. Esquema del protocolo del test de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Figura 14. Distribución de la población en función de la concentración de hidrógeno (ppm) para cada una de los tiempos de toma de muestra.

Figura 15. Mediana de concentración hidrógeno (p25-p75) de las muestras de aire espirado tomadas en intervalos de 20 minutos durante 2 horas.

Figura 16. Distribución de la población en función de la concentración de metano (ppm) en cada una de los tiempos en los que se tomó la muestra de aire espirado.

Figura 17. Mediana (p25-p75) de concentración en cada una de las muestras de aire espirado tomadas en intervalos de 20 minutos durante 2 horas.

Figura 18. Mediana (p25-p75) de hidrógeno en las muestras de aire espirado tomado en intervalos de 20 minutos y el episodio combinado muerte o ingreso por cualquier causa.

Figura 19. Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por cualquier causa y AUC-H₂.

Figura 20. Mediana (p25-p75) de metano en las muestras de aire espirado del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y el episodio combinado muerte o ingreso por cualquier causa.

Figura 21. Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por cualquier causa y AUC-CH₄.

Figura 22. Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por cualquier causa y AUC-H₂-CH₄.

Figura 23. Mediana (p25-p75) de hidrógeno en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y el episodio combinado muerte, ingreso por cualquier causa o visitas a urgencias.

Figura 24. Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte, ingreso por cualquier causa o visitas a urgencias estratificadas por cuartiles de AUC-H₂.

Figura 25. Mediana (p25-p75) de metano en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y el episodio combinado muerte, ingreso por cualquier causa o visitas a urgencias.

Figura 26. Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte, ingreso por cualquier causa o visitas a urgencias y AUC-CH₄.

Figura 27. Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte, ingreso por cualquier causa o visitas a urgencias y AUC-H₂-CH₄.

Figura 28. Mediana (p25-p75) de hidrógeno en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y mortalidad.

Figura 29. Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier estratificado por cuartiles de AUC-H₂.

Figura 30. Mediana (p25-p75) de metano en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y mortalidad.

Figura 31. Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier estratificado por cuartiles de AUC-CH₄.

Figura 32. Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier estratificado por cuartiles de AUC-H₂-CH₄.

Figura 33. Mediana de hidrógeno (p25-p75) en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y el episodio combinado muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca.

Figura 34. Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca y AUC-H₂.

Figura 35. Mediana (p25-p75) de metano en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y el episodio combinado muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca.

Figura 36. Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca y AUC-CH₄.

Figura 37. Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca y AUC-H₂-CH₄.

Figura 38. Número de pacientes que experimentaron ingresos repetidos.

Figura 39. Relación entre AUC-H₂ y el riesgo de reingresar por cualquier causa.

Figura 40. Análisis multivariante de AUC-H₂ y el riesgo de reingresar por cualquier causa.

Figura 41. Relación entre AUC-CH₄ y el riesgo de reingresar por cualquier causa.

Figura 42. Análisis multivariante de AUC-CH₄ y el riesgo de reingresar por cualquier causa.

Figura 43. Análisis univariante de AUC-H₂-CH₄ y el riesgo de reingresar por todas las causas.

Figura 44. Análisis multivariante de AUC-H₂-CH₄ y el riesgo de reingresar por cualquier causa.

Figura 45. Número de pacientes que reingresaron por insuficiencia cardiaca aguda y el número de ingresos que presentaron.

Figura 46. Análisis univariante de AUC-H₂ y el riesgo de reingresar por insuficiencia cardiaca aguda.

Figura 47. Análisis multivariante de AUC-H₂ y los reingresos por insuficiencia cardiaca aguda.

Figura 48. Análisis univariante de AUC-CH₄ y el riesgo de reingresar por insuficiencia cardiaca aguda.

Figura 49. Análisis multivariante: AUC-CH₄ y el riesgo de reingresar por insuficiencia cardiaca aguda.

Figura 50. Relación entre AUC-H₂-CH₄ y el riesgo de reingresar por insuficiencia cardiaca aguda.

Figura 51. Análisis multivariante de AUC-H₂-CH₄ y el riesgo de reingresar por insuficiencia cardiaca aguda.

Figura 52. Correlación entre logAUC-H₂ y la interleuquina 1-beta.

Figura 53. Correlación entre logAUC-H₂ y la interleuquina-10.

Figura 54. Correlación entre logAUC-H₂ y el factor de necrosis tumoral- α .

Figura 55. Análisis multivariante: LogAUC-H₂ con el método de regresión múltiple robusta y la fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

Figura 56. Análisis multivariante: LogAUC-H₂ con el método de regresión múltiple robusta y el recuento linfocitario.

Figura 57. Análisis multivariante: LogAUC-H₂ con el método de regresión múltiple robusta y el factor de necrosis tumoral- α .

Figura 58. Correlación entre logAUC-CH₄ y la interleuquina-1beta.

Figura 59. Síntesis de la trimetilamina-N-óxido.

Figura 60. Interacción de la endotoxina con las lipoproteínas séricas.

TABLAS

Tabla 1. Concentraciones de procalcitonina y diagnóstico de sepsis bacteriana.

Tabla 2. Concentración de bacterias en el tracto gastrointestinal (bacterias/mL).

Tabla 3. Condiciones asociadas con el desarrollo del síndrome de sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado.

Tabla 4. Factores que pueden influir en los resultados del test del aliento de sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado.

Tabla 5. Variables recogidas en el estudio.

Tabla 6. Instrucciones del test del aliento para la determinación del sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Tabla 7. Características basales de la población de estudio.

Tabla 8. Prevalencia de SBID en función de las diferentes definiciones aceptadas en el estudio.

Tabla 9. Análisis univariante y análisis multivariante del riesgo de muerte o ingreso por cualquier causa de cada una de las definiciones de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Tabla 10. Análisis univariante y análisis multivariante del riesgo de muerte, ingreso por cualquier causa o visitas a urgencias asociados a cada una de las definiciones de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Tabla 11. Análisis univariante y análisis multivariante del riesgo de muerte asociados a cada una de las definiciones de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Tabla 12. Análisis univariante y análisis multivariante del riesgo de muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca aguda asociados a cada una de las definiciones de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Tabla 13. Correlación entre AUC-H₂ y parámetros inflamatorios.

Tabla 14. Correlación entre AUC-H₂ y parámetros de severidad de la insuficiencia cardiaca.

Tabla 15. Relación entre logAUC-H₂ con variables clínicas. Interacción descompensación reciente*edemas periféricos

Tabla 16. Relación entre logAUC-H₂ y variables clínicas. Interacción dosis de furosemida/día*edemas periféricos

Tabla 17. Correlación entre AUC-CH₄ y parámetros de severidad de la enfermedad.

Tabla 18. Análisis multivariante de AUC-CH₄ con el método de regresión múltiple robusta: magnitud de asociación, dirección y significación estadística.

Tabla 17. Correlación entre AUC-CH₄ y parámetros inflamatorios.

Tabla 18. Correlación entre AUC-CH₄ y parámetros de severidad de la enfermedad.

Tabla 19. Análisis multivariante de AUC-CH₄ con el método de regresión múltiple robusta: magnitud de asociación, dirección y significación estadística.

Tabla 20. Disbiosis intestinal y trastornos asociados.

Tabla 21. Recomendaciones sobre la preparación y realización de los tests del aliento para el diagnóstico de SBID.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Conceptos generales

Según las guías de la Sociedad Europea de Cardiología sobre el diagnóstico y tratamiento de insuficiencia cardiaca (IC) más recientes, la IC es un síndrome clínico caracterizado por síntomas típicos (disnea, edema en los tobillos y fatiga muscular) que podrían estar acompañados de signos (elevada presión venosa yugular, crepitantes pulmonares y edemas periféricos), causados por una anomalía estructural y/o funcional y que se acompañan de una reducción del gasto cardiaco y/o de altas presiones intracardiacas en reposo o durante el esfuerzo (1).

1.2. Epidemiología

La IC es un problema sanitario grave asociado a altas cifras de mortalidad y a hospitalizaciones frecuentes (2). La prevalencia de esta enfermedad se encuentra en constante aumento, aproximadamente un 1-2 % de la población adulta en los países industrializados desarrolla IC, hasta llegar a alcanzar cifras de más de un 10% en sujetos mayores a 70 años (1). Debido a la alta prevalencia y al alto riesgo de complicaciones agudas y crónicas que conlleva, la IC ha pasado a considerarse como una de las enfermedades con mayor impacto socio-sanitario en el mundo occidental (2).

En general, el manejo de la IC consume el 1-2% del gasto sanitario de los países europeos, del que un 75% aproximadamente corresponde a gastos de hospitalización (3).

En Estados Unidos, la IC afecta a un total de 5,7 millones de personas, hasta llegar a los 26 millones a nivel mundial (4). Este hecho puede atribuirse, en parte, al

aumento de la esperanza de vida de la población y a los avances en el tratamiento de la cardiopatía isquémica e hipertensión arterial (5). La prevalencia de la IC entre la población de 45 a 55 es del 1,3%, del 5,5% entre los que tienen 55 y 64 años, del 8% entre los 65 y los 74 años, y del 16% en los pacientes de más de 75 años (6). Según datos del estudio Price (7), en nuestro país, la prevalencia de la IC se sitúa en el 6,8% de la población general, con cifras similares en ambos sexos y con un aumento asociado a la edad.

A pesar de la mejoría en la supervivencia asociada a la IC durante los últimos 30 años, los datos epidemiológicos europeos más recientes aún reflejan una alta tasa de mortalidad a un año en pacientes hospitalizados por IC (en torno al 20%) y también en los estables/ambulatorios (en torno al 10%). Con respecto a las tasas de nuevas hospitalizaciones, las cifras son incluso más elevadas, del 44% en pacientes hospitalizados y del 32% en pacientes estables/ambulatorios (1).

1.3. Fisiopatología de la IC

1.3.1. Generalidades

La IC es un desorden progresivo iniciado tras un episodio índice impetuoso (por ejemplo, el infarto de miocardio), gradual o insidioso (por ejemplo, cambios hemodinámicos por presión o la sobrecarga de volumen) o de origen hereditario (8).

Generalmente, la aparición de los síntomas sucede tras un periodo de tiempo inespecífico que puede durar desde meses hasta años, posiblemente, por la activación de una serie de mecanismos compensatorios que mantienen la función cardiaca dentro de un rango fisiológico/homeostático para conservar la capacidad funcional. Este proceso compensatorio consiste en la activación de los sistemas

neurohormonales (sistema renina-angiotensina-aldosterona), adrenérgico, e inflamatorio (aumento de citoquinas plasmáticas). Simultáneamente, se activa la liberación de moléculas vasodilatadoras para compensar la vasoconstricción vascular periférica excesiva (péptidos natriuréticos, prostaglandinas (PGE2 y PGI2)) y óxido nítrico) (8).

El conjunto de cambios adaptativos dentro del miocardio se denomina colectivamente remodelado cardiaco. No obstante, el concepto general, es que la expresión sostenida de estas moléculas biológicamente activas contribuye a la progresión de la IC en virtud de los efectos nocivos que ejercen sobre el corazón y la circulación a largo plazo (8).

En la figura 1 se detallan los principales mecanismos fisiopatológicos implicados en la IC.

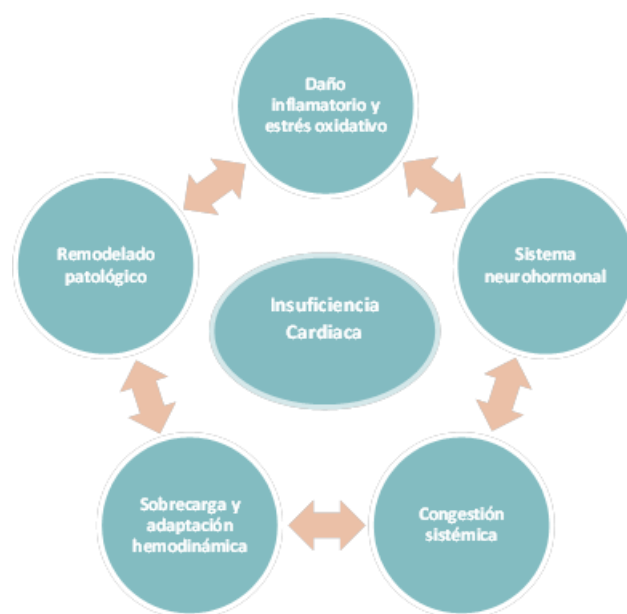


Figura 1: Factores implicados en la fisiopatología de la insuficiencia cardiaca.

1.3.2. Factores fisiopatológicos implicados en la progresión de la enfermedad

1.3.2.1. Sobrecarga, adaptación hemodinámica y remodelado patológico

La explicación hemodinámica más clásica y sencilla sobre la IC, propone que el déficit miocárdico inicial produce una disminución de la fracción de eyección que se resuelve con un aumento de la contracción auricular para aprovechar la reserva cardiaca. Esta situación compensatoria mantenida produce cambios en la forma y función del ventrículo izquierdo, conocidos como remodelado ventricular. Cuando se alcanza esta situación, la conducción eléctrica y la función ventricular favorecen el desarrollo de la IC (8).

La sobrecarga del ventrículo derecho dificulta a su vez el llenado del ventrículo izquierdo y, como consecuencia, favorece la disminución del gasto cardiaco, la reducción de la perfusión tisular e hipoxemia (9) (Figura 2).

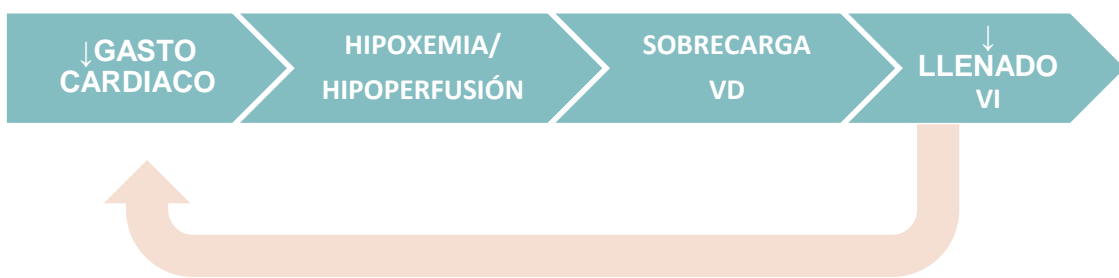


Figura 2: Alteraciones hemodinámicas implicadas en la disfunción del ventrículo derecho.

1.3.2.2. Sistema nervioso simpático, y sistema neurohormonal

La liberación de noradrenalina, secundaria a la activación del sistema nervioso simpático, permite aumentar la contractilidad cardiaca, la frecuencia cardiaca y la

vasoconstricción (8). El principal estímulo neurohormonal para la activación de este sistema es la hipoperfusión renal, que aumenta la liberación de renina y la concentración de angiotensina II, y que a su vez favorece vasoconstricción de las arteriolas renales eferentes y la liberación de aldosterona. El resultado final de este proceso es el aumento de la retención hidrosalina. Cuando este mecanismo se mantiene en el tiempo, se produce remodelado vascular y ventricular, disfunción miocárdica/vascular y consecuencias clínicas deletéreas (10).

1.3.2.3. Congestión sistémica

La congestión sistémica implica un aumento de la presión venosa central (PVC) y un aumento del volumen circulante, principalmente a nivel de la circulación venosa esplácnica (9). La presencia de signos y síntomas como disnea, ortopnea, edemas, ingurgitación yugular, ascitis, hepatomegalia o crepitantes pulmonares durante un episodio de IC aguda, indica congestión (10). Hasta la fecha, no se conoce ninguna herramienta útil y precisa que permita medir la congestión de forma aislada. Para cuantificarla, se suele recurrir a la caracterización de síntomas y signos (edemas, ascitis o la ingurgitación yugular) en combinación con parámetros ecocardiográficos (Fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), medición del diámetro y colapso de la vena cava inferior o la estimación de la presión sistólica de la arteria pulmonar (PAPS) (10). En los últimos años, se ha dado a conocer un biomarcador muy prometedor en este ámbito que funciona como subrogado de sobrecarga hídrica en la IC, el antígeno carbohidrato 125 (CA125). Esta glicoproteína suele encontrarse elevada en un alto porcentaje de pacientes agudos descompensados (11). Su cualidad más destacable es que mantiene una relación directa con la severidad de la enfermedad y los eventos

clínicos (12). Además, también ha demostrado una correlación con la mortalidad de forma independiente (13).

La congestión venosa ha sido clásicamente definida como un “epifenómeno” relacionado con la severidad de la IC, sin embargo, en los últimos años es abundante la información que respalda una posible asociación causal entre la severidad de la congestión y la progresión de la enfermedad. Según este anterior postulado, a mayor severidad en la congestión sistémica, mayor predisposición a la isquemia subendocárdica, mayor dilatación ventricular y mayor insuficiencia mitral, mayor deterioro del filtrado glomerular por congestión venosa renal y mayor inflamación sistémica por la posible translocación de bacterias o sus productos desde el tubo digestivo (14-16).

1.3.2.4. Respuesta inflamatoria sistémica en la IC

Paradójicamente, la activación de la respuesta inflamatoria pretende proporcionar protección, sin embargo, puede provocar mayor daño que la protección prestada cuando escapa al control y los mecanismos reguladores se ven sobrepasados. La caracterización de la respuesta inmune dentro de este complejo proceso fisiopatológico podría categorizarse por el uso de biomarcadores.

Biomarcadores inflamatorios en la IC:

Diversos estudios han puesto de manifiesto la presencia de una activación inmunológica e inflamación persistente en la IC (17), y, aunque puede ser un factor fisiopatológico que contribuye en la progresión de la enfermedad, su papel no está “confirmado” como en el caso de la respuesta neurohumoral (8). No existe un consenso claro en la literatura científica acerca de qué mediadores inflamatorios son

los biomarcadores mejor caracterizados y por tanto, los recomendados para seguir el curso del proceso inflamatorio en la IC. De entre el amplio rango de moléculas disponibles, las más estudiadas son: las citoquinas pro-inflamatorias, las citoquinas anti-inflamatorias, los receptores solubles de citoquinas pro-inflamatorias, las moléculas de adhesión celular, el recuento linfocitario, la proteína C reactiva (PCR), el ST2, la endoxotina o lipopolisacáridos (LPS) y la procalcitonina (PCT).

- **Moléculas de adhesión celular**

Estas moléculas se expresan en el endotelio de vasos sanguíneos, en plaquetas y leucocitos. Son fuertemente inducidas por las citoquinas pro-inflamatorias para potenciar la migración de células inmunes desde la circulación a los tejidos. La concentración en sangre de ciertas moléculas de esta familia (E-selectina, P-selectina, moléculas de adhesión intracelular -1 (ICAM-1) y moléculas de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1)), se relacionó con la severidad de la IC crónica (18-20). Se observó un aumento de la proporción de estas moléculas en sangre en situaciones clínicas más deficientes, y un descenso con la mejoría de los síntomas y el tratamiento (18-20).

- **PCR**

La PCR es un reactante de fase aguda segregado por los hepatocitos estimulados por las citoquinas pro-inflamatorias durante episodios agudos, principalmente por la interleuquina-6 (IL-6). En pacientes con IC, un aumento de la concentración sérica de este biomarcador durante un periodo de estabilidad de la enfermedad fue indicativo de empeoramiento del status del paciente (21). Funciona además como predictor independiente de hospitalización por descompensación de IC y de mortalidad (21, 22).

- **Recuento linfocitario**

Un recuento bajo de linfocitos se aúna con peor pronóstico en los pacientes con IC. Levy et al. (23) encontraron una asociación inversa con la mortalidad a partir de un modelo de predicción de supervivencia a 1, 2 y 3 años en pacientes con IC. Simultáneamente, el grupo de Rudiger et al. (24) hallaron que un recuento bajo de linfocitos se correlacionaba con mayor mortalidad a un año. De esa misma manera, años más tarde, Núñez et al. (25) establecieron una relación inversa entre el recuento linfocitario y la mortalidad tras un año de seguimiento en pacientes ingresados por IC aguda, describiendo así su utilidad como variable capaz de predecir el pronóstico adverso.

- **ST2**

ST2 es un miembro de la familia de la interleuquina-1 (IL-1). Se expresa en fibroblastos y cardiomiocitos en respuesta al estrés mecánico (26). Puede expresarse en su forma transmembrana (ST2L) o puede expresarse como receptor soluble circulante (sST2). Los dos formatos se unen a la interleuquina-33 (IL-33) liberada en respuesta al estrés mecánico, desencadenando diferentes efectos. Cuando IL-33 se une a ST2L, promueve la señalización que protege contra la fibrosis y la hipertrofia, pero cuando sST2 se une a IL-33, impide la señalización previa, de tal forma que provoca fibrosis e hipertrofia (26). Generalmente, cuando se habla de ST2 se trata de sST2, la forma soluble del receptor.

Adicionalmente, se ha visto que sST2 puede estar influenciado por la activación inflamatoria. Según algunos autores, podría ser el predictor de riesgo de mortalidad más potente en la IC (27, 28).

En el estudio PRIDE, los valores de sST2 se mostraron significativamente más elevados en los pacientes con IC y el riesgo de muerte se correlacionó positivamente con los niveles de sST2 (29). Una serie de trabajos recientes encontraron resultados similares, donde se ve reflejado el valor pronóstico de sST2 en pacientes con IC (30-33).

- **Endotoxina/LPS**

Existe cierta controversia en la utilidad de este biomarcador, pues pese a haberse visto acrecentados los niveles medios de LPS en los pacientes con IC (34, 35), no ha conseguido establecerse como biomarcador inflamatorio en este perfil de pacientes (36).

La mayoría de los efectos de la endotoxina en el organismo son secundarios a la producción de citoquinas, la unión de la endotoxina a los receptores CD14 de las células inmunocompetentes inicia vías de señalización intracelulares que resultan en la activación de cascadas inflamatorias que participan en la eliminación de microorganismos invasores (37). En efecto, el complejo endotoxina-CD14 se ha descrito como el desencadenante más potente para la liberación del factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), marcador inflamatorio que generalmente se encuentra elevado en pacientes con IC (38, 39). En estudios experimentales, la administración de dosis bajas de LPS, indujo un incremento de citoquinas en plasma de 2 a 10 veces, niveles similares a los descritos en condiciones de síndromes inflamatorios crónicos (40).

- **PCT**

Bioquímicamente, es la prohormona de la hormona calcitonina y se libera por las células C del tiroides. Su función biológica e inducción son diferentes a las de la

calcitonina. En estados infecciosos, responde ante toxinas microbianas y mediadores proinflamatorios y es sintetizada en adipocitos y células parenquimatosas (41, 42). Estos tejidos carecen de gránulos secretores, por lo que dan lugar a una liberación de PCT de forma constitutiva (42).

La PCT, se ha descrito como el biomarcador más prometedor en la detección de infecciones bacterianas (43). La evolución de la concentración PCT en sangre se correlaciona con el estado de la enfermedad, obteniendo valores más elevados en situaciones más graves (41). En la actualidad, se utiliza para el diagnóstico diferencial en casos de infección bacteriana (44). En la tabla 1 se indican las concentraciones de PCT y el riesgo asociado de presentar infección bacteriana.

Concentración de PCT (µg/L) y riesgo de infección bacteriana:	
< 0,5	- No existe riesgo de bacteriemia.
0,5 - 2	- Baja probabilidad de infección
2 - 10	- Alta probabilidad de sepsis
> 10	- Sepsis bacteriana severa o shock séptico

Tabla 1. Concentraciones de procalcitonina y diagnóstico de sepsis bacteriana.

Los niveles normales de PCT se encuentran en torno a $0,033 \pm 0,003$ ng/ml (45).

En el contexto de la IC, destaca el trabajo de Maisel et al. (46), estos investigadores aislaron mayores concentraciones de PCT en los pacientes con IC respecto a los controles sanos. A su vez, el subgrupo de pacientes con IC e infección bacteriana concomitante mostró las concentraciones de PCT más elevadas. En otro estudio reciente, la mediana (rango intercuartil (IQR)) de concentración de PCT en una cohorte de 264 pacientes ingresados por IC aguda fue de 0,06 ng/mL (0,04-0,10),

dando soporte a la anterior premisa (47). En este sentido, diferentes autores sugirieron una liberación desde el hígado y células mononucleares de sangre periférica mediada por citoquinas proinflamatorias y endotoxinas provenientes del intestino congestionado (38, 48). De acuerdo con estos postulados, se examinaron los principales determinantes de la concentración de PCT y fueron los subrogados del deterioro de la función renal (una baja tasa de filtrado glomerular), la sobrecarga de líquidos (sodio, gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) y baja tasa de filtración glomerular) y la inflamación (leucocitos, bajo recuento linfocitario, la proteína C-reactiva, HDL bajo, y endotoxina) (49).

- **Citoquinas pro-inflamatorias: TNF- α , IL-6 e IL-1 β**

Las citoquinas ejercen su efecto biológico al unirse a sus receptores situados en las membranas celulares. Estos receptores pueden mantenerse clavados a la membrana o pueden desprender su parte soluble al espacio extracelular y/o a la circulación general. Se liberarán en respuesta a la exposición de citoquinas inflamatorias, estrés mecánico o por el LPS bacteriano (39). El biomarcador más estudiado en sujetos con IC es TNF- α : aumenta sus niveles en sangre durante episodios de descompensación, se ha asociado a una peor clase funcional y funciona como predictor independiente de mortalidad cardiaca y no cardiaca en pacientes con IC crónica (50, 51). A su vez, la fracción soluble de este biomarcador ha resultado ser aún más precisa como predictor de mortalidad por IC (52). Así mismo, otros miembros de la familia de las interleuquinas pro-inflamatorias, como la interleuquina 1-beta (IL-1b) y la IL-6, presentaron características similares en los pacientes con IC (53, 54). Sin embargo, hasta el momento, no existe un potencial uso de estas moléculas como biomarcadores de enfermedad en la IC. El tratamiento con fármacos antiinflamatorios

en estos pacientes no fue satisfactorio, lo que probablemente implique la participación de múltiples vías y mecanismos (55, 56).

El origen de la activación de las citoquinas en la IC continúa siendo desconocido. Las citoquinas pro-inflamatorias pueden ser secretadas por las células mononucleares, por tejidos periféricos en situación de hipoxia o incluso por el miocardio dañado (57). Existen fundamentalmente dos hipótesis que pretenden explicar el vínculo existente entre la actividad neurohumoral e inflamación: la “hipótesis de las citoquinas” y la “hipótesis de la translocación bacteriana”. La “hipótesis de las citoquinas”, propone que los miocitos son capaces de sintetizar y secretar citoquinas pro-inflamatorias, principalmente TNF- α , en respuesta a varios inductores de tipo mecánico, como sobrecargas volumétricas o de presión (57). Por otro lado, la “hipótesis de la translocación bacteriana” defiende como factor principal de activación del sistema inmune, el paso de bacterias o fragmentos de las mismas (conocidos como endotoxinas) desde el intestino a la circulación general por un incremento del edema de la pared del intestino sumado a la hipoxia por hipoperfusión (57).

1.4. El papel del intestino en la IC

1.4.1. Generalidades

Históricamente, quitando de limitadas excepciones, el sistema gastrointestinal ha recibido poca atención dentro del contexto de la enfermedad cardiaca a pesar de contener la circulación regional más grande nacida de la aorta, la circulación esplácnica (58). La circulación esplácnica recibe alrededor de una cuarta parte del gasto cardiaco, convirtiéndola en el reservorio de sangre más extenso, irriga la porción abdominal del

tubo digestivo, el bazo, el páncreas y el hígado (58). La siguiente figura resume la anatomía vascular del tracto gastrointestinal (Figura 3).

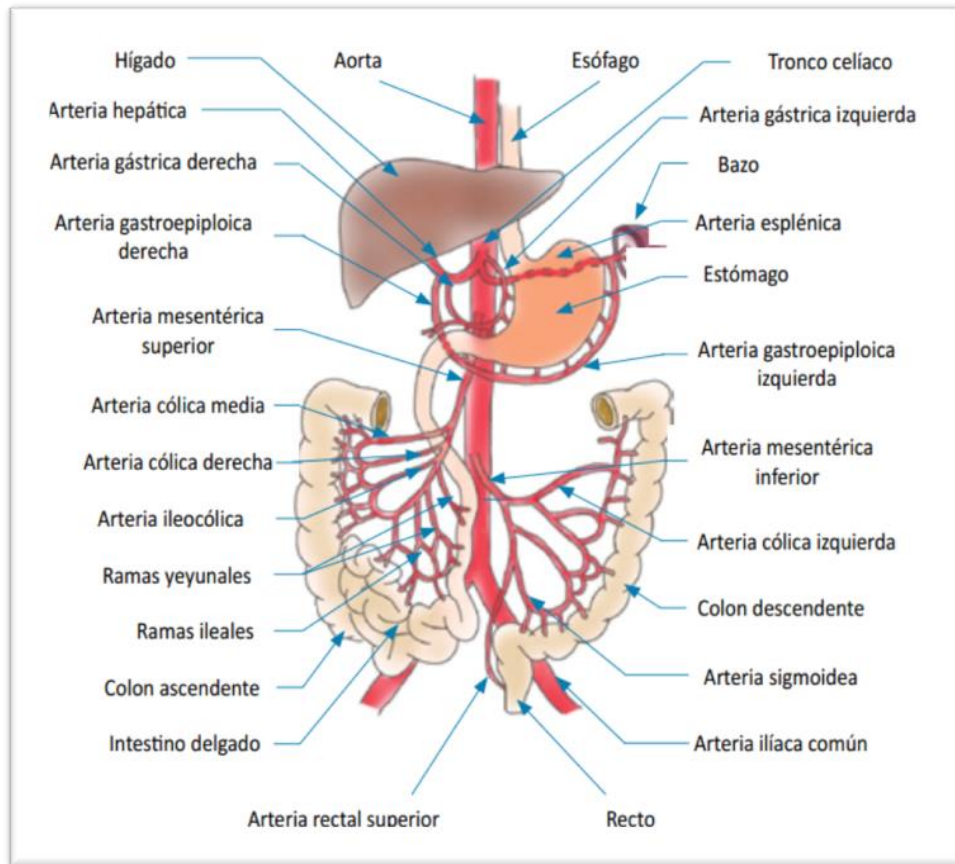


Figura 3: Anatomía vascular del tracto gastrointestinal.

Adaptado de Montro et al.(59)

Las venas esplácnicas están dotadas de un gran número de receptores α -1 y α -2, y como consecuencia, son muy sensibles a la respuesta del sistema nervioso simpático (60).

Dentro del sistema gastrointestinal, el intestino es el órgano más vascularizado. Destaca su gran extensión, alcanza alrededor de unos 100 m^2 , lo que le permite recibir más de la mitad del flujo sanguíneo intestinal. La mucosa intestinal es el área

metabólica activa del intestino. Está formada por vellosidades y microvellosidades (61).

Las citoquinas inflamatorias, algunos factores físicos como el estrés osmótico, la congestión, la malnutrición y un sobrecrecimiento de bacterias pueden alterar la permeabilidad de las uniones estrechas de las células epiteliales de la mucosa, permitiendo el paso de moléculas y la translocación de bacterias y sus productos (endotoxina) (61).

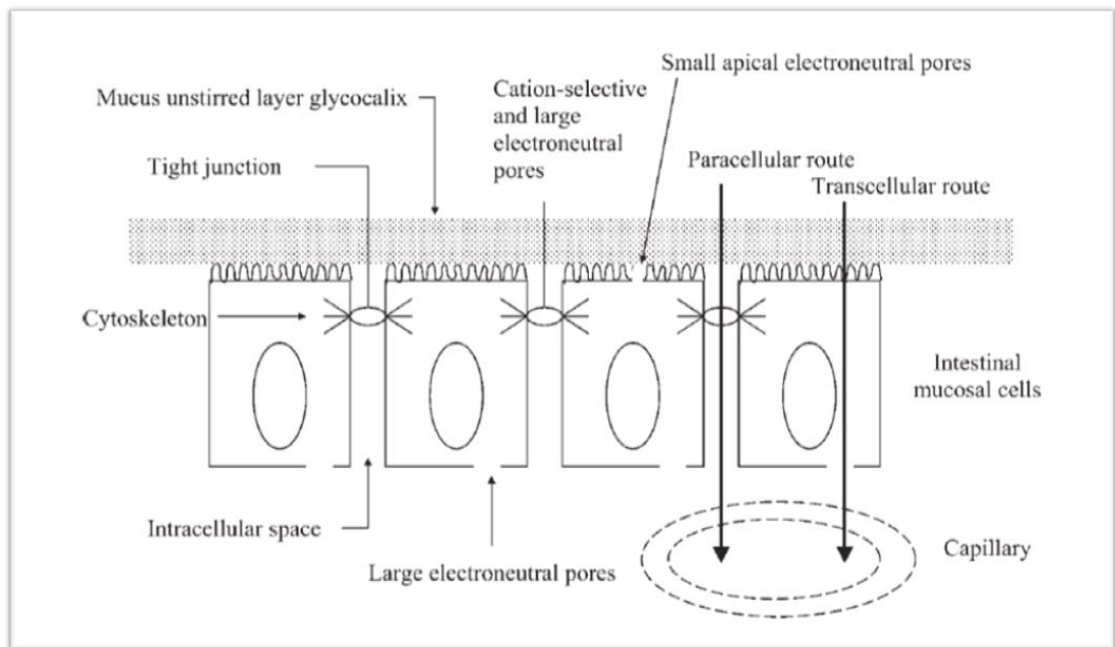


Figura 4: Barrera epitelial de la mucosa intestinal: rutas de transporte no mediado.

Adaptado de Krack et al. (61).

1.4.2. Hipótesis de la translocación bacteriana

Desde un punto de vista teórico las alteraciones hemodinámicas presentes en la IC pueden producir alteraciones en la morfología y función del tubo digestivo. La

hipoperfusión y la congestión venosa han emergido como los mecanismos fisiopatológicos responsables (58).

Los capilares, arteriolas y vénulas de la microcirculación intestinal se organizan de forma que las vellosidades intestinales permiten la creación de un gradiente de concentración intersticial, siendo la parte externa la zona que alcanza mayor osmolaridad (9).

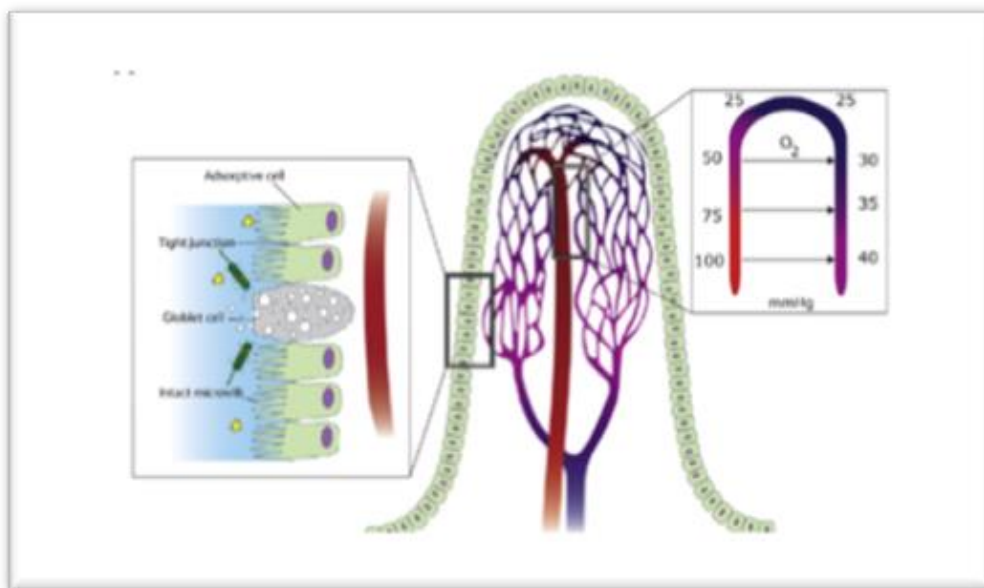


Figura 5: Microcirculación intestinal.

Adaptado de Verbrugge et al. (9).

Este sistema de microcirculación es particularmente susceptible a la hipoxia. Una baja perfusión por bajo gasto cardíaco o un aumento de la presión venosa central por congestión sistémica, aumenta el riesgo de isquemia intestinal (9). La combinación de la anoxia y la sobreproducción de bacterias gram-negativas, residentes habituales del intestino, provoca un aumento de la permeabilidad y favorece el transporte paracelular de la pared intestinal (62). La presencia de isquemia en estos pacientes se

estudió a partir una serie de marcadores subrogados como la disminución del pH de la mucosa o una disminución del transporte pasivo de D-xilosa mediado por transportadores (63, 64).

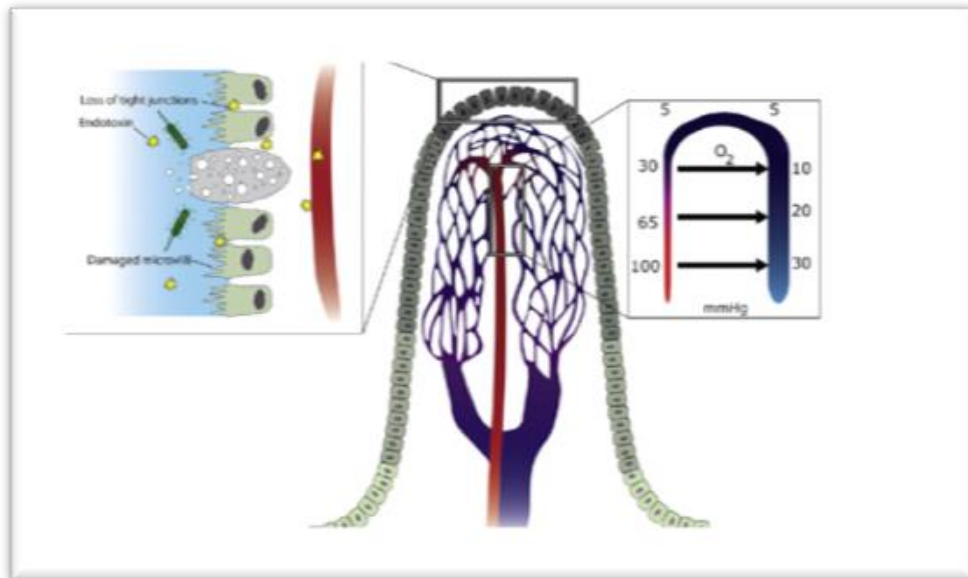


Figura 6: Microcirculación esplácnica bajo flujo sanguíneo.

Adaptado de Verbrugge et al. (9).

El acúmulo de productos bacterianos en el torrente circulatorio podría explicar el incremento característico de biomarcadores inflamatorios como TNF- α , IL-6 y PCR, en los pacientes con IC durante episodios agudos (65).

El origen de esta hipótesis surgió durante los últimos años del pasado siglo, cuando el grupo de Anker et al. propusieron que la congestión intestinal por sobrecarga hídrica y/o una posible isquemia por hipoperfusión, favorecería el paso de bacterias gram-negativas, o parte de ellas, activando la respuesta inflamatoria (66).

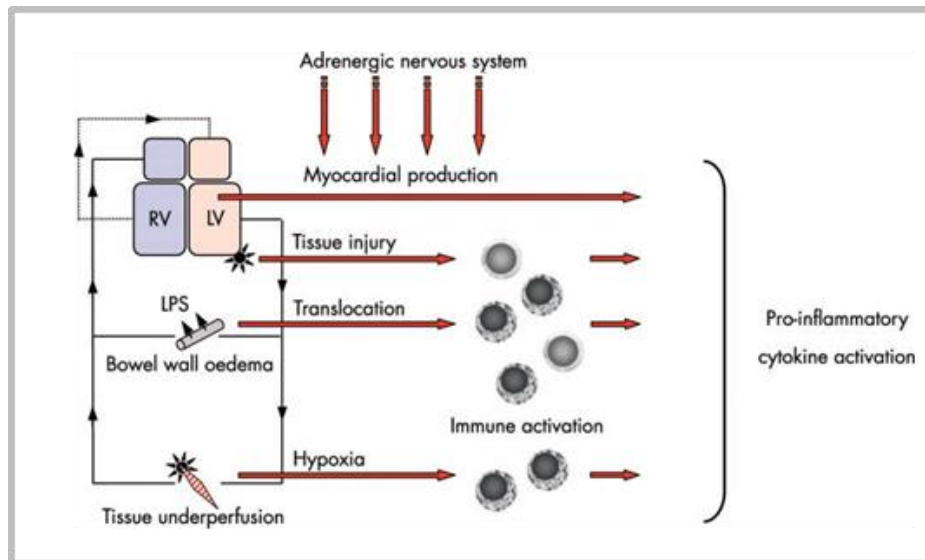


Figura 7: Mecanismo de liberación de citoquinas pro-inflamatorias por el lipopolisacárido bacteriano.

Adaptado de Anker et al. (57).

La génesis de esta teoría surgió del hallazgo de niveles elevados del receptor soluble CD14 y otros marcadores de inflamación en pacientes con IC y evidencia de congestión sistémica en mayor presencia que en controles o pacientes con IC estable sin signos de congestión (66). Dos años más tarde, un estudio de cohortes daba soporte a esta hipótesis al concluir que los niveles de LPS, TNF- α y CD14 se encontraban elevados en los pacientes con edemas periféricos y que, estos mismos niveles, decrecían al administrar tratamiento diurético (34). Investigadores de este grupo, años más tarde, encontraron que el incremento característico del LPS en estos pacientes se localizaba preferentemente en la vena hepática (35), hecho que sugirió que el origen de la elevada actividad inflamatoria en la IC podía provenir del tracto intestinal. En esta misma línea, el grupo de Conrad et al. (67) mostró que la descontaminación intestinal selectiva podía atenuar el acúmulo de endotoxinas y a su vez la expresión de monocitos CD14 y citoquinas en pacientes con IC.

En los últimos años, se ha mantenido latente el marcado interés por la conexión fisiopatológica y clínica entre intestino y corazón destacando la aparición de nuevas publicaciones, resumimos a continuación algunos de los resultados obtenidos:

- a) En un estudio de 22 pacientes con IC crónica y 22 sujetos sanos se calculó el grosor de la pared intestinal siendo mayor en el grupo con IC crónica. Los porcentajes de permeabilidad intestinal del grupo con IC superaron a los del grupo control en un 35% en el intestino delgado y en un 21% en el intestino grueso. Por último, la concentración de bacterias adheridas a la mucosa intestinal también fue mayor en el grupo con IC crónica (68).
- b) Se estimó la concentración de ácido desoxirribonucleico (DNA) extracelular circulante en 80 pacientes con enfermedad cardiovascular (ECV) y 40 controles sanos en un estudio del grupo de Dinakaran V. Se aisló una mayor proporción de DNA extracelular en los pacientes con ECV asociado a un aumento de DNA de origen bacteriano y vírico (1925,64 ng/ml; IQR=391,83-5395,92) en comparación con el grupo control (37,85 ng/ml; IQR=32,80-69,38). A su vez, las bacterias aisladas en el grupo con ECV fueron de grupos más diversos (69).
- c) El flujo intestinal de pacientes con IC (n=65) fue un 30 - 40% menor al de un grupo de sujetos sanos (n=25). La reducción del flujo se asoció a un aumento del crecimiento de bacterias y a la presencia de síntomas intestinales, de forma más señalada en pacientes en estados más avanzados de IC (70).
- d) En 60 pacientes con IC crónica y 20 controles sanos, se analizó la presencia de bacterias y hongos (especies de *Candida*) en heces, la permeabilidad intestinal, la presión arterial diastólica (PAD) y la presencia de enfermedad

inflamatoria sistémica (concentraciones plasmáticas de PCR). En comparación con el grupo control, la población de estudio presentó mayor proporción de bacterias patógenas y de hongos en heces. La permeabilidad intestinal, la PAD y la inflamación, también alcanzaron cifras mayores en los pacientes con IC (71).

1.4.3. Microbiota intestinal

Existen alrededor de 10^{14} organismos bacterianos de más de 2000 especies diferentes dentro del cuerpo humano, y la mayor parte de ellos, habita en el intestino (65). La composición filogenética de las comunidades bacterianas evoluciona hacia una configuración de tipo adulto durante los primeros años de vida, se ve influenciada en gran medida por el estilo de vida y/o la exposición ambiental más que por factores genéticos heredados (72). Estos microorganismos juegan un importante papel dentro del funcionamiento del organismo: participan en la protección a la exposición ambiental, la digestión y la absorción de nutrientes (73). Por ejemplo, la microbiota intestinal regula el desarrollo y función de las barreras de la mucosa, controla la absorción y metabolismo de los nutrientes, participa en la maduración de los tejidos inmunológicos y previene la propagación de microorganismos patógenos (74).

En condiciones fisiológicas, la composición cuantitativa y cualitativa de la comunidad bacteriana es diferente a lo largo del tracto gastrointestinal. En la tabla 2 se detalla la distribución habitual de las bacterias a lo largo del tracto gastrointestinal:

	Estómago	Yeyuno	Íleon	Ciego
Aerobios	10^2-10^3	10^2-10^4	10^5-10^8	10^2-10^9
Anaerobios	0	0	10^3-10^7	10^9-10^{12}
Total	10^2-10^3	10^2-10^4	10^5-10^8	$10^{10}-10^{12}$

Tabla 2. Concentración de bacterias en el tracto gastrointestinal (bacteria/mL).

En cuanto a las diferencias cualitativas, el duodeno y el yeyuno normalmente albergan un bajo número de bacterias, generalmente lactobacilos y enterococos, bacterias aerobias gram-positivas o anaerobios facultativos ($<10^4$ organismos por mL). En la zona de tránsito pueden encontrarse bacterias coliformes ($<10^3$ organismos por mL). El íleon distal es la zona de transición entre la escasa población de bacterias aerobias en el intestino delgado proximal y la densa población en el intestino grueso (75).

Cualquier desequilibrio (cualitativo o cuantitativo) en este complejo microbiológico puede tener consecuencias locales y/o sistémicas, incluyendo la aparición de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado (SBID) (76).

1.4.4. SBID

El SBID es un síndrome heterogéneo caracterizado por un incremento en el número y/o tipo de bacterias en la parte superior del tracto intestinal (76). Históricamente, el diagnóstico de SBID se basaba en un resultado de cultivo de aspirado del yeyuno proximal de más de 10^5 unidades formadoras de colonias (CFU)/mL. Más adelante, en una revisión sistemática, Khoshini et al.(77) expusieron que los adultos sanos normales tienen recuentos mucho más bajos. Sobre la base de estos y otros datos, ya que el intestino delgado en ausencia de patogenia rara vez contiene más de 10^3 bacterias, este umbral, $\geq 10^3$ CFU/mL, pasó a considerarse como el nivel de referencia más razonable por la mayoría de autores (77, 78).

1.4.4.1. Prevalencia del SBID

La prevalencia global de SBID en la población general se desconoce. Por lo general, suele infradiagnosticarse ya que normalmente se desarrolla sin presencia de síntomas, con síntomas inespecíficos, o con síntomas atribuibles a la patología subyacente (76). Por tanto, su diagnóstico dependerá normalmente de los métodos empleados.

De acuerdo con diferentes estudios que incluyeron personas clínicamente sanas como controles, la prevalencia de presentar SBID alcanzó cifras de hasta un 22%. A su vez, la literatura también difiere en las cifras de prevalencia de SBID en presencia de diversas enfermedades y desórdenes intestinales (76).

1.4.4.2. Fisiopatología del SBID

Existen varios mecanismos fisiológicos que evitan la colonización bacteriana excesiva en el intestino delgado, de entre ellos destacan: a) los factores anatómicos y funcionales (el ácido gástrico, la continencia de la válvula ileocecal que impide la translocación retrógrada de bacterias desde el colon al intestino delgado, la bilis y las secreciones pancreáticas antibacterianas); b) los factores mecánicos (la actividad peristáltica intestinal) y c) los factores que inhiben la adhesión de bacterias en el epitelio (la producción de inmunoglobulina A, la integridad de la capa de la mucosa y la descamación epitelial). Por lo tanto, cualquier efecto que pueda dañar este complejo sistema podría favorecer el crecimiento anormal de bacterias en la porción proximal del intestino delgado (79). La tabla 3 resume los mecanismos fisiopatológicos asociados al desarrollo de SBID.

Condiciones asociadas con el desarrollo de SBID	
Anatómicas:	
-	Fístula gastrointestinal
-	Divertículos en el intestino delgado
-	Resección de la válvula ileocecal
-	Estenosis intestinal
-	Síndrome de "Asa ciega" por cirugía
Funcionales:	
-	Síndromes de dismotilidad intestinal
-	Hipo- o clorídea
-	Inflamación
-	Neuropatía
-	Reducción del tejido linfoide
Misceláneas:	
-	Tratamiento antisecretor o antimotilidad
-	Inmunodeficiencia
-	Radiación
-	Diabetes mellitus
-	Pancreatitis
-	Síndrome del intestino corto
-	Enfermedad renal en estados avanzados.
-	Edad avanzada

Tabla 3: Condiciones asociadas con el desarrollo del síndrome de sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado.

El desarrollo de SBID repercute negativamente en la actividad enzimática, metabólica y de absorción en el intestino. El crecimiento exagerado de bacterias en el intestino delgado desencadena una reacción inflamatoria inespecífica, tanto a nivel macroscópico como a nivel microscópico en el epitelio, debilitando el villi intestinal y produciendo daño en el borde del cepillo (80). Como consecuencia, la acción disacaridasa de los enterocitos y la actividad hidrolasa del borde del cepillo resulta impedida y la fermentación de los azúcares pasa a ser preferentemente de origen bacteriano. A su vez, la desaminación de proteínas por parte de las bacterias también se ve acrecentada, las bacterias transforman el nitrógeno de la dieta en urea y la absorción de aminoácidos resulta deficiente. La desconjugación microbiana de los ácidos biliares produce metabolitos tóxicos a la vez que reduce la absorción de lípidos

y vitaminas liposolubles (81). Los microorganismos anaerobios, además, consumen vitamina B12 impidiendo su absorción por parte del organismo, mientras que los niveles de vitamina K1 y folato pueden elevarse por la síntesis o degradación bacteriana (82). Por último, las bacterias producen diferentes agentes tóxicos con efectos sistémicos como son: el amoniaco, el D-lactato, peptidoglicanos bacterianos endógenos y otros.

1.4.4.3. Síntomas asociados al SBID

Los síntomas clínicos asociados al SBID se expresan acorde a la gravedad de la patología y reflejan la reducción de la absorción de nutrientes causada por el exceso de bacterias: la pérdida de peso y la aparición de signos de mala absorción de vitaminas y minerales (osteomalacia, hipocalcemia, osteoporosis, neuropatías, anemia macrocítica y anemia hipocrómica) (82). Los principales síntomas reportados por los pacientes con SBID son: diarrea (el más frecuente, entre un 13-89%), dolor abdominal e hinchazón abdominal. La flatulencia y la esteatorrea también son síntomas frecuentes entre los pacientes con SBID (79, 82). En general, los síntomas de SBID son inespecíficos y pueden variar ampliamente de un sujeto a otro (76).

1.4.4.4. Diagnóstico de SBID

Debido a la falta de especificidad de los síntomas, el diagnóstico debe basarse en pruebas objetivas. En un metanálisis reciente sobre las técnicas de diagnóstico del SBID, se concluyó que la técnica de referencia en la actualidad es el cultivo bacteriano a partir de un aspirado yeyunal, capaz de discriminar entre individuos sanos y sujetos con un crecimiento de bacterias desproporcionado (77). Así mismo, también se puso

de manifiesto que únicamente el 30% de las bacterias presentes en el intestino puede llegar a reproducirse en estos cultivos. Así, aunque la técnica de cultivo de fluido intestinal ha sido utilizado de forma extendida y considerado como la mejor técnica diagnóstica de SBID, presenta claras limitaciones: a) la especificidad y sensibilidad del método es baja (posibilidad de contaminación orofaríngea y limitación en el cultivo de la totalidad de cepas bacterianas); b) existe una considerable heterogeneidad técnica por la falta de validación del método; c) no existen límites de diagnóstico universalmente establecidos; d) es de alto coste; y e) es una técnica invasiva (77, 83).

En la actualidad, los métodos de diagnóstico más utilizados son las pruebas del aliento de hidrógeno (H_2) y metano (CH_4), mucho menos invasivos, más económicos, más sencillos y ampliamente disponibles (77). En humanos, en condiciones fisiológicas, el H_2 y CH_4 se generan exclusivamente en el intestino grueso por la acción de las bacterias intestinales (76). Alrededor del 80% del H_2 y CH_4 formado se libera por flatos y el 20% restante se exhala por los pulmones. Sobre la base de este principio, cuando un paciente con presunto SBID recibe una dosis conocida de sustrato glucídico, los cambios secuenciales en la concentración de H_2 y CH_4 en muestras consecutivas en el tiempo de aire espirado indicarían SBID (77).

La adición de la medición de CH_4 al test pretende mejorar la exactitud diagnóstica. Un 20%-30% de la población general produce CH_4 como subproducto principal en la fermentación de carbohidratos. Aunque se cree que las bacterias metanogénicas existen en la mayoría de los seres humanos, sólo aquellos con una concentración crítica de dichas bacterias producen niveles medibles de CH_4 en la respiración debido a su excreción primaria en flatos (84).

El test consiste en administrar un sustrato carbohidratado y más tarde cuantificar el H₂ o CH₄ resultante en el aliento. Se basa en la capacidad de la flora bacteriana de fermentar los carbohidratos de la luz intestinal liberando ambos gases. Los gases producidos por las bacterias se absorben a través de la pared del intestino delgado, del intestino grueso, o de ambos, y son transportados hasta los pulmones, donde se liberan por el aliento permitiendo su medición. La mayoría de autores usan la cromatografía de gases para el análisis de las muestras de aire espirado. La medición paralela de dióxido de carbono (CO₂) y la corrección de los valores de H₂ respecto a la concentración de CO₂ convierten al método en más preciso (79).

Los sustratos glucídicos que se usan con mayor asiduidad en estos test del aliento son:

a) Test del aliento con lactulosa: La lactulosa es un disacárido sintético no absorbible formado por fructosa y galactosa. Clínicamente se usa como laxante osmótico. En condiciones fisiológicas, la lactulosa pasa sin ser absorbida a través del intestino delgado hasta alcanzar el ciego donde es metabolizada por las bacterias del colon. Según la descripción clásica de esta prueba, debería producirse un segundo aumento en la excreción de H₂ y CH₄ en el aliento como consecuencia de la fermentación de lactulosa en el ciego. Lamentablemente, este clásico "doble pico" es más la excepción que la regla. Es mucho más común observar un único pico ancho (83).

b) Test del aliento con glucosa: La glucosa es un monosacárido que se absorbe completamente en el intestino delgado proximal bajo condiciones fisiológicas normales. Sin embargo, en presencia de SBID, las bacterias fermentan la glucosa antes de que pueda ser absorbida en el intestino proximal. La descripción clásica de esta

prueba, propone que un solo pico en la concentración de H_2 y/o CH_4 después de la ingestión de glucosa es indicativo de SBID. Al igual que en el caso del test con lactulosa, no existe un estándar ampliamente acordado en la interpretación de los resultados (83).

Existe abundante controversia en la selección del sustrato glucídico más adecuado para la estimación de SBID. Los estudios más recientes utilizan la lactulosa como sustrato (83).

A modo de ejemplo, cuando se utiliza la lactulosa como sustrato, un resultado negativo se debe a que los procesos de metabolismo del sustrato no se producen en el intestino delgado. En consecuencia, el sustrato alcanza el colon, donde por fermentación bacteriana se descompone produciendo, entre otros, H_2 y CH_4 . Así, la detección de H_2 y CH_4 en el aire espirado es tardía como se muestra en las figuras 8 y 9.

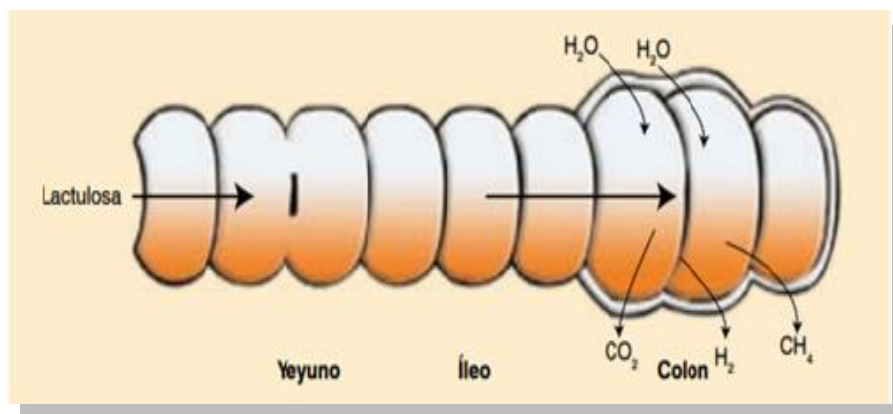


Figura 8: Resultado negativo en el test de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado con lactulosa como sustrato.

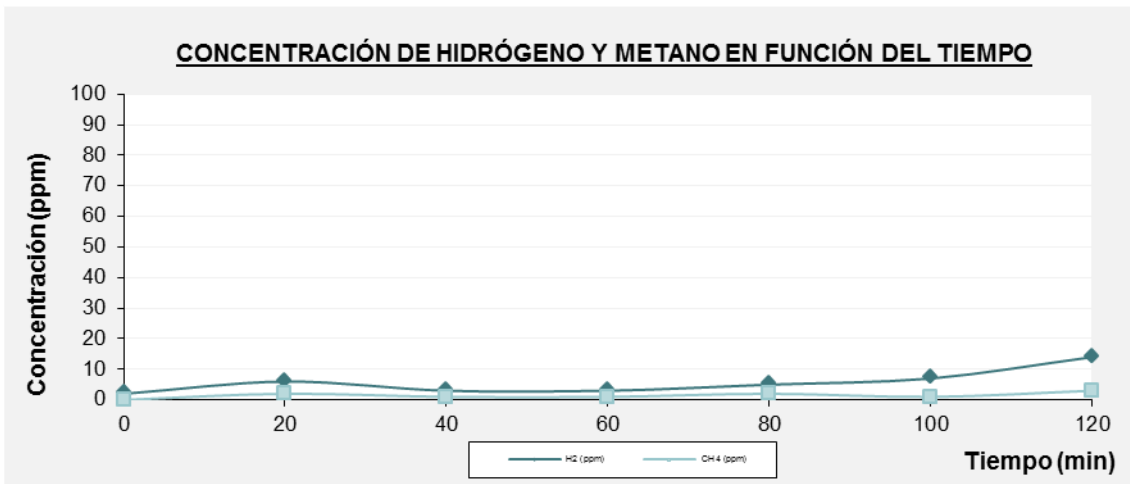


Figura 9: Gráfico de concentración de hidrógeno y metano (ppm). Resultado negativo en el test de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado con lactulosa.

Un resultado positivo del test de SBID implica que los procesos de metabolismo de la lactulosa se producen en el intestino delgado debido al sobrecrecimiento bacteriano, y en consecuencia, la lactulosa, al menos una parte, comienza a descomponerse antes de llegar al colon y la detección de gases (H_2 y CH_4) será más precoz e intensa en el tiempo (Figuras 10 y 11).

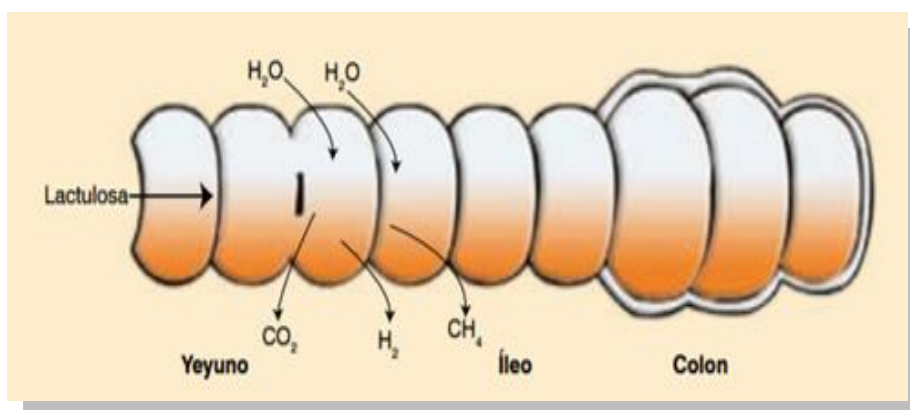


Figura 10: Resultado positivo en el test de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

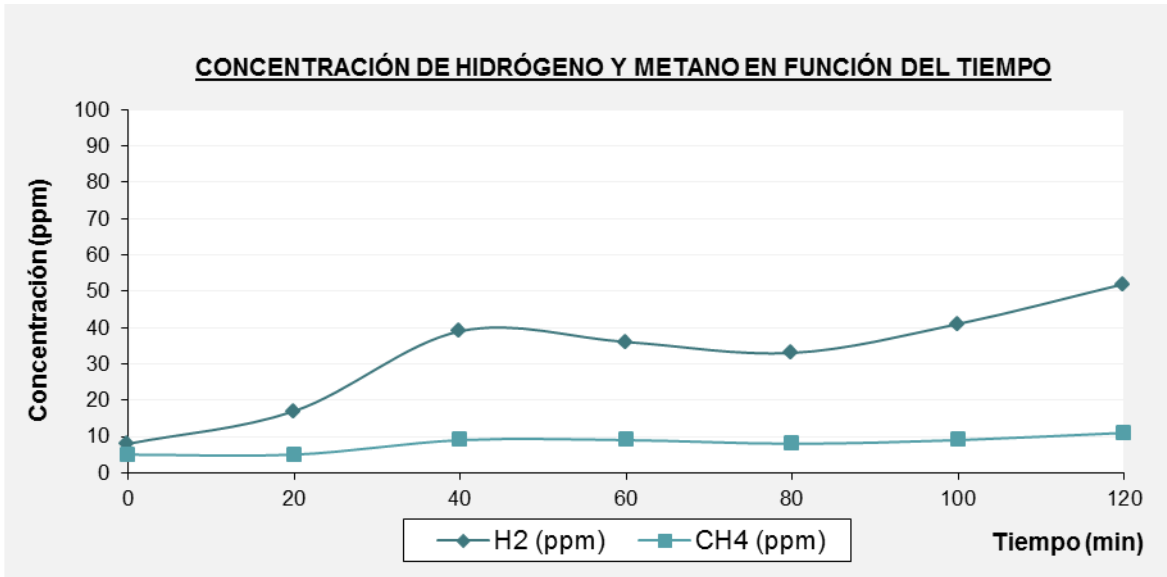


Figura 11: Gráfico de concentración de hidrógeno y metano (ppm). Resultado negativo en el test de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Existen ciertos factores a tener en cuenta antes de realizar un test de SBID. Se resumen en la tabla 4.

FACTORES
- Dieta
- Ejercicio
- Tabaco
- Uso reciente de antibióticos
- Rápido tránsito orocecal
- Tratamiento farmacológico

Tabla 4: Factores que pueden influir en los resultados del test del aliento de sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado.

Desafortunadamente, a pesar de la simplicidad de funcionamiento, esta técnica diagnóstica no está totalmente estandarizada, carece de uniformidad en el tipo de sustrato, la dosis de sustrato, la duración del test, los intervalos de medida y los puntos de corte (85). En una revisión sistemática, Khoshini et al. (77) analizaron la sensibilidad

y especificidad del método a partir de 11 estudios que valoraban la exactitud del test cuando se utilizaba lactulosa como sustrato y concluyeron que la sensibilidad para el test con lactulosa variaba entre un 31 y un 68%, y la especificidad, de un 44 a un 100%. En el caso de la glucosa, la sensibilidad varió de un 20 a un 93% y la especificidad de un 30 a un 86%.

Se nombran a continuación algunos de los inconvenientes asociados a los test del aliento para la estimación de SBID (86):

- Una absorción rápida de glucosa en el yeyuno proximal puede ser responsable de un falso negativo.
- Un sobrecrecimiento de bacterias en el íleon terminal podría confundirse con un falso negativo ante la incapacidad de distinguirlo frente un resultado no patológico, un pico de gas tardío correspondiente a la llegada del sustrato al ciego.
- En el caso contrario, frente a un síndrome del intestino delgado corto o alteraciones que aceleren el tránsito intestinal, el sustrato alcanza prematuramente al colon dando lugar a un falso positivo.
- Una baja densidad de bacterias anaerobias se traduce en un falso negativo.
- Existe controversia en la literatura científica acerca del sustrato más adecuado para la prueba.
- En pruebas que miden metano, el estreñimiento puede ser un factor de confusión.

1.4.5. Relación entre el SBID y la IC

A pesar del manifiesto interés por esclarecer los complejos mecanismos que sustentan los factores fisiopatológicos implicados en la progresión de la IC, todavía

siguen siendo grandes desconocidos. En este sentido, durante los últimos años, la participación del intestino en la fisiopatología de la IC ha ganado considerable importancia (9, 58, 68, 87), la microbiota intestinal podría relacionarse con la gravedad y pronóstico de la IC. Desafortunadamente, los estudios que contemplan la actividad de la microbiota intestinal en la IC son escasos (68, 70, 71, 88). En nuestra opinión, poder detectar este perfil de pacientes resultaría de gran utilidad. El estudio de la actividad bacteriana intestinal a partir de los test del aliento para la determinación de SBID podría ser una herramienta útil en este campo. No existe en la literatura científica ningún estudio que refleje una relación directa entre el SBID y la IC así como los determinantes y predictores de parámetros relacionados con el SBID en pacientes de este perfil.

HIPÓTESIS

2. HIPÓTESIS

La congestión visceral e isquemia presentes en la IC promoverían la aparición de SBID y por ende, una mayor predisposición de translocación de bacterias y/o endotoxinas intestinales al torrente sanguíneo/linfático, favoreciendo un mayor grado de activación inmunoinflamatoria, mayor progresión de la enfermedad y aumento del riesgo de episodios adversos clínicos. Postulamos que la cuantificación del SBID mediante la prueba de aliento de medición de H₂ y CH₄ espirado tras la ingesta oral de lactulosa se asociaría a mayor gravedad de la enfermedad y de manera independiente, a factores de riesgo establecidos y a un aumento del riesgo de episodios adversos clínicos.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo primario

Conocer la prevalencia de SBID en esta población y evaluar si la estimación del SBID mediante el test del aire espirado midiendo H_2 y CH_4 tras la sobrecarga de lactulosa, aporta información a nivel pronóstico independiente con respecto al riesgo de muerte, ingresos o visitas al hospital no planeadas en una población de pacientes con IC avanzada. En concreto los episodios adversos clínicos que se pretenden evaluar son: a) el episodio combinado de muerte por todas las causas y/o reingreso por cualquier causa; b) el compuesto de muerte por todas las causas y/o reingreso por cualquier causa y/o visita a urgencias; c) el riesgo de reingresar repetidas veces por IC; y d) el riesgo de presentar repetidos ingresos por cualquier causa.

3.2. Objetivos secundarios

- Evaluar la posible relación entre la concentración de H_2 y CH_4 en el aire espirado y el riesgo de muerte por todas las causas y el episodio combinado de muerte por todas las causas y/o reingreso por IC aguda.
- Describir la relación existente entre la estimación del SBID mediante el test del aire espirado tras sobrecarga de lactulosa y los niveles de biomarcadores de actividad inflamatoria.
- Describir cuáles son las variables clínicas que predicen significativa e independientemente los niveles de H_2 y CH_4 espirado tras el test de SBID.

MATERIALES Y MÉTODOS

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño del estudio

Se trata de un estudio observacional prospectivo a partir de una cohorte de 107 pacientes con IC avanzada. El diagnóstico de IC lo llevó a cabo un cardiólogo especializado de acuerdo a las actuales recomendaciones de práctica clínica (89).

La selección de los pacientes se realizó por muestreo consecutivo. Todos los sujetos aceptaron su participación al firmar el consentimiento informado.

4.2. Población de estudio

Criterios de inclusión:

- Al menos un episodio previo documentado de IC aguda.
- Cardiopatía estructural o funcional definida por al menos una de las siguientes:
 - Anormalidades en parámetros ecocardiográficos: FEVI < 40%, enfermedad valvular significativa o hipertrofia del ventrículo izquierdo.
 - Elevación de péptidos natriuréticos: NT-proBNP > 400 pg/ml.
- NYHA ≥ II

Criterios de exclusión:

- Síndrome coronario agudo o cirugía en los últimos 3 meses.
- Enfermedad renal crónica en diálisis.
- Enfermedad neoplásica, inflamatoria o infección activa de cualquier origen.
- Edad <18 años.

- Incapacidad para seguir las indicaciones para realizar el test de sobrecrecimiento bacteriano.
- Tratamiento con corticoides, antibióticos o suplementos de fibra o preparación digestiva para una exploración endoscópica o radiológica en las últimas 2 semanas.
- Enfermedad inflamatoria intestinal crónica o resección gastrointestinal.
- Diabetes mellitus con descompensación hiperosmolar.
- Incapacidad para firmar el consentimiento informado.

De los 107 pacientes preseleccionados, se excluyeron un total de 5 pacientes, 4 por presencia de enfermedad infecciosa en el momento del test y 1 por historia de síndrome coronario agudo en los 90 días previos. Finalmente, 102 pacientes fueron los seleccionados como población de estudio siguiendo el esquema que se muestra en el siguiente diagrama de flujo (Figura 12).

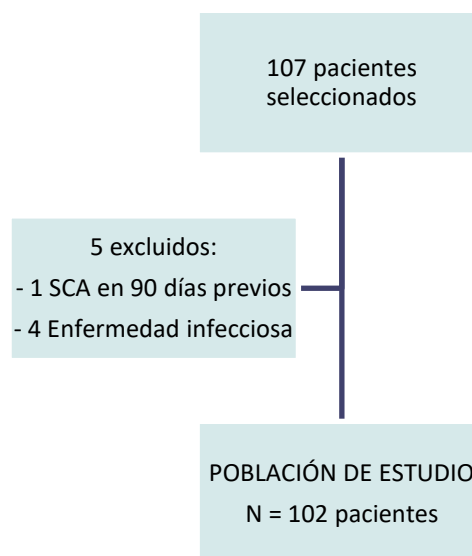


Figura 12: Flujo de pacientes incluidos en el estudio.

SCA: Síndrome coronario agudo

4.3. Procedimientos

4.3.1. Selección

Se ofreció el consentimiento informado a una serie de pacientes diagnosticados de IC avanzada que cumplía con los criterios de inclusión y ninguno de exclusión. Se explicaron las normas para realizar el test de SBID y se programó una visita para el siguiente día laborable. Desde ese momento, comenzó el registro de los datos demográficos, clínicos y analíticos que se detallan en la tabla 5.

Demográficos y clínicos	Clínicos	Analíticos
Edad	Clase funcional NYHA	Hemoglobina (g/dL)
Sexo	Descompensación por ICA en los últimos 30 días	Hematocrito (%)
Historia de:	Ingreso previo por IC	Creatinina (mg/dL)
- HTA	Edemas	Sodio (mmol/L)
- Dislipemia	Derrame pleural	Urea (mg/dL)
- Diabetes	Presión arterial sistólica	Potasio (mg/dL)
- Valvulopatías	Presión arterial diastólica	NT-proBNP (pg/mL)
- Dispositivos implantados	Frecuencia cardiaca	CA125 (u/mL)
- Tabaquismo	Parámetros ecocardiográficos:	Leucocitos abs (10^9 /L)
- Enfermedad renal	- FEVI (%)	Neutrófilos abs (10^9 /L)
Etiología	- DDVI (mm)	Linfocitos abs (10^9 /L)
Índice de Charlson	- DSVI (mm)	Recuento linfocitario (%)
Tratamiento farmacológico:	- PAPS (mmHg)	GGT (U/L)
- Diuréticos	- TAPSE (mm)	GOT (U/L)
- IECA/ARA II	- TDE (ms)	GPT (U/L)
- Mineralocorticoides	- AI (mm)	PCR (mg/L)
- Betabloqueantes	Parámetros electrocardiográficos:	PCT (ng/mL)
	- Bloqueo de rama	IL-1 β (pg/mL)
	- Ritmo cardiaco	IL-6 (pg/mL)
	Test del aliento:	IL-10 (pg/mL)
	- SBID	TNF- α (pg/mL)
		Colesterol total (mg/dL)
		Triglicéridos (mg/dL)
		HDL (mg/dL)
		LDL(mg/dL)
		Fosfatasas alcalinas (mU/mL)
		ADE (%)

Tabla 5: Variables recogidas en el estudio.

ICA: Insuficiencia cardiaca aguda; HTA: hipertensión arterial; NYHA: New York Heart Association; DDVI: Diámetro de fin de diástole del ventrículo izquierdo; DSVI: Diámetro de fin de diástole del ventrículo izquierdo; PAPS: Presión arterial sistólica de la arteria pulmonar; TAPSE: Desplazamiento sistólico del anillo tricuspídeo; TDE: Tiempo de desaceleración de la onda E; AI: Aurícula izquierda; ADE: Ancho de distribución eritrocitario, GGT: Gamma-Gutamil-Transpeptidasa, GOT: glutamato-oxalacetato transaminasa , GPT: Transaminasa glutámico-pirúvica, NT-proBNP: Fragmento aminoterminal del péptido natriurético tipo B, CA125: Antígeno carbohidrato 125, LDL: lipoproteínas de baja densidad, HDL: lipoproteínas de alta densidad, PCT: Procalcitonina, PCR: proteína C reactiva, IL-1 β : Interleuquina-1, IL-6: interleuquina-6; IL-10: interleuquina-10, TNF- α : Factor de necrosis tumoral α , FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo, IECA: inhibidores del enzima convertidor de angiotensina, ARA II: antagonistas del receptor de angiotensina II, SBID: Sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

4.3.2. Análisis clínicos y constantes vitales

En primer lugar, se extrajo una muestra de sangre en ayunas. La determinación de los niveles de PCT, IL-1 β , IL-6, IL-10 y TNF- α se analizó posteriormente a partir de una alícuota de sangre que se guardó congelada.

Adicionalmente se registró la presión arterial sistólica, la presión arterial diastólica, la frecuencia cardiaca y se realizó un electrocardiograma (ECG).

4.3.3. Estimación del SBID mediante el test del aliento

Se evaluó la existencia de SBID a partir de pruebas del aliento con lactulosa como sustrato glucídico (Gastro-kit-ISOMED[®]).

4.3.4. Datos clínicos

Los pacientes fueron evaluados clínicamente por un cardiólogo especializado ciego al resultado del test de SBID. Los parámetros ecocardiográficos se obtuvieron a partir de una ecocardiografía reciente (de menos de 3 meses de antigüedad). En el

caso de no haberse sometido a esta prueba dentro del tiempo estipulado en el estudio, se programó la prueba en un periodo máximo de 7 días.

4.4. Métodos

4.4.1. Muestras de sangre

Las muestras se obtuvieron por punción venosa mediante un sistema de vacío en tubos con anticoagulante heparina-litio. Una vez en el laboratorio de bioquímica, se centrifugaron durante 5 minutos a 3000 revoluciones por minuto y fueron procesadas para determinar los parámetros disponibles de forma rutinaria.

Adicionalmente, se recogieron alícuotas de las anteriores muestras que fueron congeladas en tubos de polipropileno a -80°C para la posterior determinación de PCT, IL-1 β , IL-6, IL-10 y TNF- α . Para proceder a su análisis, las muestras fueron descongeladas durante 12h a temperatura ambiente, agitadas en vórtex para su homogeneización y centrifugadas para eliminar posibles restos de fibrina.

La determinación de PCT se llevó a cabo con un sistema automatizado en el laboratorio de bioquímica del Hospital Clínico Universitario de Valencia en una sola serie para reducir la variabilidad inter-ensayo. El resto de parámetros se analizaron en el laboratorio de la Fundación de Investigación del Hospital Clínico de Valencia en dos series debido a las limitaciones que plantearon los sistemas semiautomatizados.

4.4.2. Parámetros bioquímicos

4.4.2.1. PCT

La concentración de PCT en sangre se analizó mediante un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECLIA) con reactivo comercial de Roche Diagnostics (test

Elecsys BRAHMS PCT) mediante el autoanalizador Modular Analyticis E170 (Roche Diagnostics, Basilea, Suiza)). Se trata de un inmunoensayo tipo sándwich a 37 °C que se lleva a cabo en etapas y dura un total de 18 minutos.

4.4.2.2. Citoquinas

La técnica utilizada fue: Multiplex de alta sensibilidad a partir de MILLIPLEX MAP KIT High Sensitivity Human Cytokine Magnetic Bead Kit.

La tecnología multiplex xMAP combina la citometría de flujo (una técnica tradicional) con los inmunoensayos dando lugar a una nueva tecnología multiparamétrica que permite la determinación de hasta 100 biomarcadores distintos en una muestra biológica de forma casi instantánea, lo que permite reducir el tiempo, el volumen de muestra y los costes.

El principio de este análisis es similar a un inmunoensayo tipo sándwich. Los anticuerpos dirigidos contra las citoquinas están unidos covalentemente a microesferas magnéticas (“beads”) que contienen en su interior dos fluoróforos. La superficie de las microesferas está recubierta con anticuerpos frente a las moléculas de interés.

El procedimiento se resume en:

1. Se humecta la placa con tampón de lavado y posteriormente se elimina.
2. Se añaden a cada pocillo las microesferas con el anticuerpo dirigido frente a las diferentes citoquinas.
3. Se realiza de nuevo un lavado de la placa, esta vez por duplicado. Las microesferas magnéticas necesitan un soporte imantado de mano sobre el que se coloca la placa para realizar el lavado, de esta forma se mantienen en el

fondo del pocillo y no son eliminadas al eliminar el fluido de lavado. Se mantienen en el soporte durante 60 segundos y se elimina el tampón mediante decantación suave.

4. Se añaden a cada pocillo los reactivos necesarios (calibradores, controles, tampón de ensayo y matriz sérica) según sea conveniente por el diseño de la placa, y se añaden más tarde las muestras de plasma.
5. Se incuba tapado y en agitación a 4 °C durante 16-20 horas para que se produzca la unión de los péptidos de interés con los anticuerpos que cubren la superficie de las microesferas.
6. Se lava la placa por duplicado y se añade posteriormente un anticuerpo de detección marcado con biotina.
7. Tras incubar la placa en agitación una hora a temperatura ambiente se añade la solución de estreptavidina-ficoeritrina a cada pocillo y se incuba la placa nuevamente a temperatura ambiente y agitación durante 30 minutos.
8. Tras esta segunda incubación se forma un inmunocomplejo tipo sándwich formado por la microesfera recubierta por el anticuerpo de captura, el antígeno de interés y el anticuerpo de detección.
9. Se lava la placa por duplicado y más tarde se añade el fluido de sistema a cada pocillo.
10. Finalmente, se lee el resultado de la reacción en el citómetro LuminexMAP por citometría de flujo, cuantificando la intensidad de las reacciones bioquímicas que tienen lugar en la superficie de las microesferas. El fundamento del proceso se basa en el paso de las microesferas a través de una cámara de detección que lleva incorporados dos láseres por un flujo

monopartícula líquido. Uno de los láseres (rojo) emite una radiación que excita las moléculas de fluoróforos contenidas en las microesferas, lo que permite, gracias a su patrón de radiación característica, identificar el tipo de microesfera. El otro láser (verde) excita las moléculas de ficoeritrina por lo que detecta la fluorescencia en la superficie de las microesferas, cuanto mayor es la cantidad de antígeno presente en la muestra mayor es la intensidad de la fluorescencia emitida por la ficoeritrina. El software del aparato (Luminex®) calcula automáticamente la concentración de cada citoquina presente en la muestra mediante interpolación de los valores de fluorescencia en una curva de calibración obtenida al realizar diluciones seriadas de una suspensión de citoquinas de concentración conocida.

4.4.3. Test del aliento para la estimación de SBID

El test se realiza soplando con una pajita en un pequeño tubo de vidrio con tapa que recoge el aire espirado del aliento. Antes y durante la prueba, deben seguirse una serie de recomendaciones para asegurar una mayor exactitud diagnóstica (Tabla 6).

TEST DE SOBRECRECIMIENTO BACTERIANO DEL INTESTINO DELGADO : INSTRUCCIONES

- Mantener al menos 6 horas de ayuno.
- 24 horas antes de comenzar la prueba no ingerir judías, pasteles, grandes cantidades de manzanas, cebolla, col, pan fresco horneado, ni ninguna otra comida de difícil digestión.
- Periodo de lavado de al menos 4 semanas tras la toma de antibióticos, lavados intestinales o enteroscopias.
- Mientras se realiza la prueba el sujeto no se puede comer ni masticar chicle, sólo se puede beber agua.
- No fumar ni realizar cualquier esfuerzo físico al menos 30 minutos antes de la ingestión del sustrato y durante el tiempo que dure la prueba.
- Se recomienda a los pacientes realizar enjuagues bucales antes de la realización de la prueba para evitar que las bacterias orofaríngeas puedan degradar el sustrato a su paso por la boca y produzcan H_2 y/o CH_4 .

Tabla 6: Instrucciones para el test del aliento del sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

En primer lugar, se toma una muestra de aire basal. Tras este paso inicial, se administra un sustrato carbohidratado, en nuestro caso 10 gramos lactulosa disuelta en 250 mL de agua. Las siguientes muestras de aire espirado se recogen cada 20 minutos hasta alcanzar 2 horas. Los resultados de concentración de H_2 , CH_4 y CO_2 se obtienen posteriormente, al analizar el contenido de los tubos que se mantuvieron cerrados con tapa por cromatografía de gases.

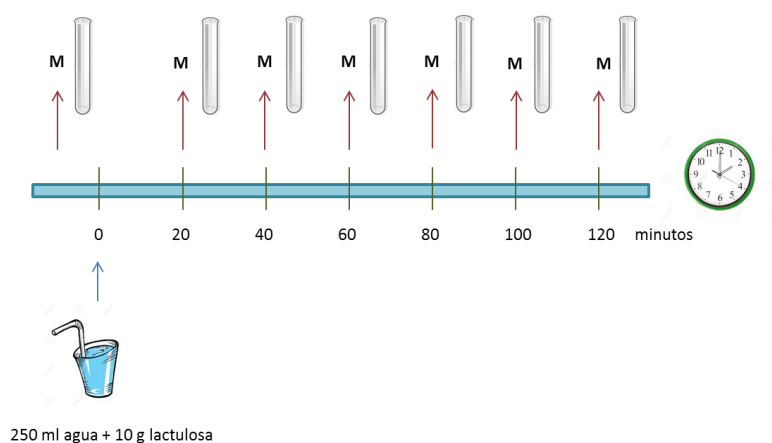


Figura 13: Esquema del protocolo del test de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

Existe una alta controversia en los criterios diagnósticos que deben seguirse en el test del aliento con lactulosa para el diagnóstico de SBID (76, 85, 90). La mayoría de

autores considera un resultado positivo cuando se obtiene un valor mayor a 20 ppm de H₂ y/o de 12 ppm de CH₄ dentro de los primeros 90 minutos. Nos referiremos a este criterio como diagnóstico de SBID (90, 91). Otros autores, apoyan el anterior criterio y además añaden como criterio de diagnóstico positivo adicional la obtención de un valor basal de 20 ppm o superior de H₂ y/o de 12 ppm o superior de CH₄. Nos referiremos a este criterio como SBID-Basal (SBID-B) (76, 92-94). La aparición de un doble pico, uno temprano (correspondiente al gas liberado por el intestino delgado) y otro tardío (cuando el sustrato es transformado en el intestino grueso) en la curva de H₂ o de CH₄ también se considera como positivo para el test en algunos casos. Sin embargo, según la literatura más reciente resultó no ser apropiado y lo descartamos como criterio diagnóstico de SBID en este estudio (76, 80, 91, 94-96). Otros autores defienden que un incremento mantenido en el tiempo de 10 ppm de H₂ también puede considerarse SBID. Nos referiremos a este criterio como SBID-Hidrógeno mantenido (SBID-HM) (80, 96).

4.5. Seguimiento del paciente y registro de episodios adversos clínicos

El seguimiento de los pacientes se llevó a cabo a partir de la historia clínica electrónica y en visitas programadas a la unidad de IC.

Tiempo hasta el primer evento: Los criterios de valoración clínica evaluados fueron el tiempo hasta: a) el compuesto de muerte por todas las causas y/o reingreso por cualquier causa, b) el compuesto de muerte por todas las causas y/o reingreso por cualquier causa y/o visitas a urgencias, c) la muerte por todas las causas y d) el compuesto de muerte por todas las causas y/o reingreso por ICA.

Hospitalizaciones repetidas: Todas las hospitalizaciones ocurridas durante el seguimiento se contemplaron en este análisis (reingresos por todas las causas y reingresos por IC aguda).

4.5.1. Adjudicación de episodios adversos

4.5.1.1. Mortalidad

La información referente a este episodio adverso se obtuvo de la información proporcionada por los familiares o a partir de la revisión de la historia clínica electrónica. En cualquier caso, se registró por un investigador desconocedor de los resultados del test de SBID y de los parámetros analíticos evaluados.

4.5.1.2. Ingresos

Los ingresos, no programados, se llevaron a cabo desde el área de urgencias del hospital según la práctica clínica. La revisión de la historia clínica por parte de un investigador ciego a los resultados del test de SBID permitió definir la causa de cada ingreso. Los ingresos por IC aguda se registraron según los datos expuestos en el informe redactado por el cardiólogo/especialista responsable.

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

4.6.1. Cálculo del tamaño de la muestra

Al tratarse de un estudio observacional piloto en la que no se dispone de estudios previos que informen sobre la distribución del SBID en la población de estudio y en el que numerosas hipótesis serán evaluadas, no se realizó un cálculo del tamaño de la muestra de manera específica. En su lugar, se aseguró la inclusión de un número

suficiente pacientes y de episodios adversos clínicos que permitan la realización de un ajuste multivariante robusto que incluyese las principales variables de reconocido valor pronóstico en IC aguda y potenciales variables confusoras. En este sentido, para los criterios de valoración principal se intentó respetar la regla de 10 episodios adversos por cada covariable incluida en el modelo multivariante final como se recomienda ampliamente en la literatura (97), especialmente para los análisis relativos al criterio de valoración principal.

4.6.2. Análisis descriptivo

Las variables continuas se expresaron como media \pm desviación estándar (SD) en caso de distribución normal, o como mediana (percentil 25 -percentil 75 (p25-p75)) en ausencia de la misma. En las distribuciones que no siguieron un patrón de normalidad, (la mediana de concentración de H₂ y CH₄), las diferencias entre grupos se calcularon por pruebas no paramétricas (el *test de Mann-Whitney*) y para aquellas de distribución normal, las diferencias entre grupos se calcularon mediante el *test t de student*. Las características de la población se evaluaron de acuerdo al área bajo la curva que describe la concentración de hidrógeno a lo largo de la prueba (AUC-H₂) y el área bajo la curva que describe la concentración de metano durante los 120 minutos que duró la prueba (AUC-CH₄). El área bajo la curva concentración-tiempo (AUC) se calculó para estimar la cantidad media de gas acumulada correspondiente a la excreción de cada uno de los gases (H₂ y CH₄) a lo largo de la prueba. El AUC se calculó por el método de los trapecios a partir del área delimitada por el gráfico obtenido al representar la concentración en función del tiempo. La cantidad total de gases espirados (la suma de H₂ y CH₄) se calculó a partir de la adición de los valores de AUC-

H₂ a los de AUC-CH₄, constituyendo el área bajo la curva de ambos gases acumulados (AUC-H₂-CH₄) (98).

4.6.3. SBID y pronóstico

4.6.3.1. Tiempo hasta el primer episodio adverso

El tiempo hasta el primer episodio adverso estratificado de acuerdo a los niveles del AUC-H₂, AUC-CH₄ y AUC-H₂-CH₄ se representó mediante el *método de Kaplan-Meier* y sus diferencias estimadas mediante el *peto-peto test*.

La asociación independiente de reconocidas variables de interés pronóstico entre los parámetros evaluados de SBID y el tiempo hasta el primer episodio adverso clínico se evaluó mediante regresión de *riesgos proporcionales de COX* y los resultados se expresaron como *Hazard Ratios* (HR) con sus respectivos intervalos de confianza del 95%. La selección de covariables se realizó en base al conocimiento médico previo y posteriormente se creó un modelo simplificado y parsimonioso evitando la sobresaturación. Durante este proceso la linealidad de las variables continuas se evaluó mediante polinomios fraccionados. La capacidad discriminativa y la asunción de proporcionalidad se evaluaron mediante *el estadístico C de Harrell* y *los residuos de Schoenfeld*, respectivamente.

4.6.3.2. Hospitalizaciones recurrentes

La asociación entre los valores de nuestras variables a estudio (AUC-H₂, AUC-CH₄ y AUC-H₂CH₄) y el riesgo de hospitalizaciones recurrentes se analizó mediante el método de regresión binomial negativa (NBreg) con ajuste simultáneo por muerte

como episodio adverso final (99). Las estimaciones de riesgo se presentaron como *incidence rate ratios* (IRR).

4.6.3.3. Predictores independientes de AUC-H₂ y AUC-CH₄

Para determinar los factores de riesgo que predecían el logaritmo del AUC-H₂ (logAUC-H₂) y el logaritmo del AUC-CH₄ (logAUC-CH₄) se realizó un análisis de regresión lineal multivariante. El supuesto de la linealidad se evaluó y transformó simultáneamente, si resultaba apropiado, con polinomios fraccionados. Se consideró como significativa una p de dos colas <0.05 en todos los casos. Todos los análisis se realizaron utilizando la plataforma estadística STATA 14.1.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Características del grupo de estudio

Se incluyeron un total de 102 pacientes en el estudio, desde Marzo de 2014 a Febrero de 2016. En la tabla 7 se muestran las características basales de la población.

CARACTERÍSTICAS BASALES	
Variables	N=102
Demográficos y clínicos previos	
Edad, años	73,9 ± 8,2
Varón, n (%)	73 (71,6)
Descompensación por ICA reciente (30 días), n (%)	73 (71,6)
Ingreso previo por IC, n (%)	53 (51,9)
NYHA III/IV, n (%)	39 (38,3)
Dislipemia (%)	81 (79,4)
HTA, n (%)	88 (86,3)
DM, n (%)	47 (46,1)
Tabaco, n (%)	51 (50)
Cardiopatía isquémica, n (%)	43 (42,2)
Enfermedad valvular, n (%)	37 (36,3)
DAI, n (%)	14 (13,7)
Marcapasos, n (%)	11 (10,8)
Edema periférico, n (%)	65 (63,8)
Índice de Charlson, n	2 ± 1
Enfermedad renal, n (%)	43 (42,2)
Exploración física y electrocardiograma	
Frecuencia cardiaca, latidos/min	88 ± 64
Presión arterial sistólica, (mmHg)	130 ± 26
Presión arterial diastólica, (mmHg)	72 ± 13
Fibrilación auricular/flutter, n (%)	52 (50,1)

Bloqueo de rama en el electrocardiograma, n (%)	32 (31,4)
Parámetros ecocardiográficos	
FEVI, %	44,8 ± 15,5
FEVI ≥ 50%, n(%)	43 (42,1)
FEVI entre 40-49%, n(%)	14 (13,7)
FEVI < 40%, n (%)	45 (44,2)
DDVI (mm)	58,6 (9,9)
DSVI (mm)	43,4 (12,1)
PAPS (mmHg)	42,7 (13,4)
TAPSE (mm)	17,8 (3,8)
TDE (ms)	202,6 (49,8)
AI (mm)	45,9 (7,2)
Parámetros analíticos	
Hemoglobina (g/dL)	12,2 ± 12,4
Hematocrito (%)	38,2 ± 5,4
Ancho de distribución eritrocitario (%)	15,7 ± 2,3
Creatinina (mg/dL)	1,6 ± 0,8
Sodio (mmol/L)	140 ± 3,4
Filtrado Glomerular estimado, mL/min/1,73m ²	52,8 ± 24,2
Urea (mg/dL) [ⓧ]	66 (50-105)
Potasio, mmol/L	4,2 ± 0,5
Glucemia (mg/dL)	110 (94-116)
Ácido úrico (mg/dL)	8,9 ± 2,9
NT-proBNP (pg/mL) [ⓧ]	3276 (1284-1009)
CA125 (U/L)	76 (21-152)
Leucocitos absolutos (x 10 ⁹ células/L)	7223 ± 2037
Neutrófilos absolutos (x 10 ⁹ células/L)	4655 (3740-5960)
Linfocitos absolutos (x 10 ⁹ células/L)	1370 (900-1840)
Recuento linfocitario (%)	20,7 (10,9)
GGT (U/L) [ⓧ]	58 (27-114)
GOT (U/L) [ⓧ]	27,9 ± 13,4

GPT (U/L) [‡]	19 (13-27)
Fosfatasas alcalinas (mU/mL)	97(71-133)
PCR (mg/L) [‡]	10,1 (4,4-22,8)
PCT (ng/mL) [‡]	0,07 (0,05-0,12)
IL-1 β (pg/mL) [‡]	3,8 \pm 4,6
IL-6 (pg/mL) [‡]	7 (3,2-174,2)
IL-10 (pg/mL) [‡]	3,2 (1,5-6,1)
TNF α (pg/mL) [‡]	16,8 \pm 12,5
Colesterol total (mg/dL)	143 \pm 34,5
Colesterol HDL (mg/dL)	40,3 \pm 11
Colesterol LDL (mg/dL)	93,6 \pm 25,2
Triglicéridos (mg/dL)	103 \pm 40
Tratamiento farmacológico	
Diuréticos de asa, n (%)	89 (87,2)
β -bloqueantes, n (%)	74 (72,3)
IECA/ARAII, n (%)	67 (65,7)
Antialdosterónicos, n (%)	37 (36,3)

Tabla 7: Características basales de la población de estudio.

Los valores de variables continuas se expresan como media \pm SD.

[‡] Valores expresados como mediana (rango intercuartílico).

* Filtrado glomerular estimado mediante la fórmula MDRD: Tasa de filtrado = $186 \times \text{Creatinina en plasma}^{-1,154} \times \text{Edad}^{-0,203} \times 1,21$ en raza negra $\times 0,742$ en mujeres.

HTA: hipertensión arterial, DM: diabetes mellitus , DAI: Desfibrilador automático implantable, ADE: Ancho de distribución eritrocitario, FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo, GGT: Gamma-Gutamil-Transpeptidasa, GOT: glutamato-oxalacetato transaminasa , GPT: Transaminasa glutámico-pirúvica, NT-proBNP: Fragmento aminoterminal del péptido natriurético tipo B, CA125: Antígeno carbohidrato 125, LDL: lipoproteínas de baja densidad, HDL: lipoproteínas de alta densidad, PCT: Procalcitonina, PCR: proteína C reactiva, IL-1 β : Interleukina-1 β , IL-6: interleukina-6; IL-10: interleukina-10, TNF- α : Factor de necrosis tumoral α , DDVI: Diámetro diastólico del ventrículo izquierdo, DSVI: Diámetro sistólico del ventrículo izquierdo, TAPSE: Desplazamiento sistólico del anillo tricúspide, PAPS: Presión arterial pulmonar sistólica, TDE: tiempo de deceleración de la Onda E, AI: Aurícula

izquierda, IECA: inhibidores del enzima convertidor de angiotensina, ARA II: antagonistas del receptor de angiotensina II.

En resumen, la media de edad de esta cohorte fue de 73,9 años ($\pm 8,2$ años) y el sexo predominantemente masculino (71,6%). El factor de riesgo cardiovascular más frecuente fue la hipertensión arterial (HTA) (88,6%), seguido de dislipemia (56,7%), historia previa de tabaquismo (50 %) y diabetes mellitus (46,1 %). En cuanto a la historia previa de IC, el 71,6% de la población de estudio había tenido un episodio de descompensación en los últimos 30 días. En un 42,2% de los pacientes la etiología de la enfermedad fue isquémica y un 42 % tenía antecedentes de insuficiencia renal. En el momento de la valoración, 39 sujetos (38,2%) manifestaron una clase funcional NYHA III/IV. La media de la FEVI registrada fue de $44,8 \pm 15,5\%$. El 44,2 % de los sujetos tenía FEVI disminuida (FEVI<40%), el 13,7% FEVI intermedia (40-49%) y 42,1% FEVI preservada ($\geq 50\%$). En cuanto a los biomarcadores, la mediana (p25-p75) del fragmento aminoterminal del péptido natriurético tipo B (NT-proBNP) y PCT fue de 3276 (1284-10079) pg/mL y 0,07 (0,05-0,12) ng/ml, respectivamente. La media de hemoglobina (Hb) y del filtrado glomerular estimado (FGE) fue de $12,2 \pm 12,4$ g/dL y $52,8 \pm 24,2$ ml/min/1,73m², respectivamente.

5.2. Análisis descriptivo de acuerdo a la concentración de H₂ y CH₄

5.2.1. Concentración de H₂

La distribución de la población según la concentración de H₂ espirado tras la prueba de la lactulosa para cada tiempo no siguió una distribución normal (Figura 14).

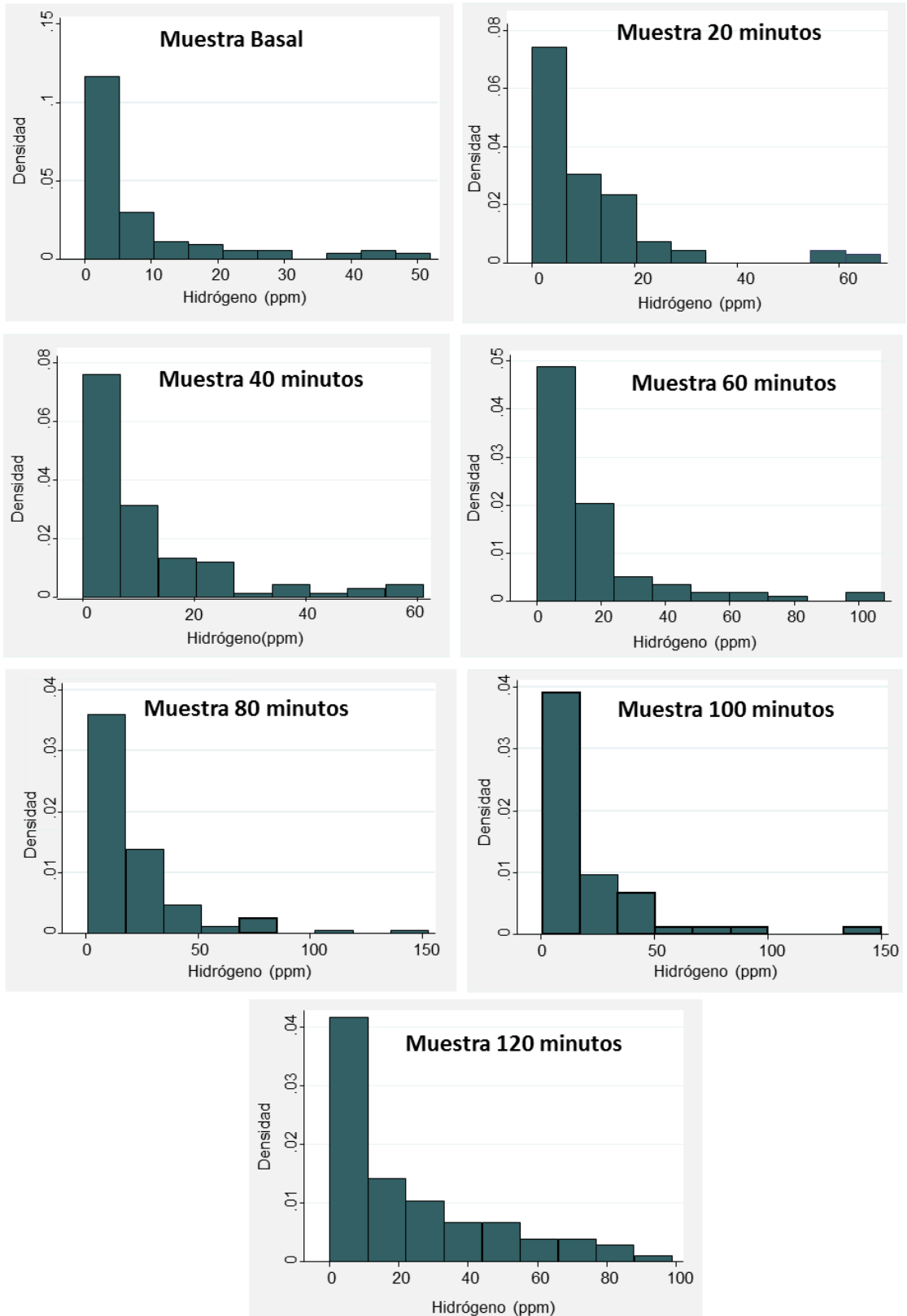


Figura 14: Distribución de la población en función de la concentración de hidrógeno (ppm) para cada una de los tiempos de toma de muestra.

En la figura 15 se muestra cómo evolucionó la mediana (p25-p75) de concentración de H₂ desde el inicio hasta el final de la prueba. Como se puede observar, existe un incremento gradual que es máximo a los 120 min.

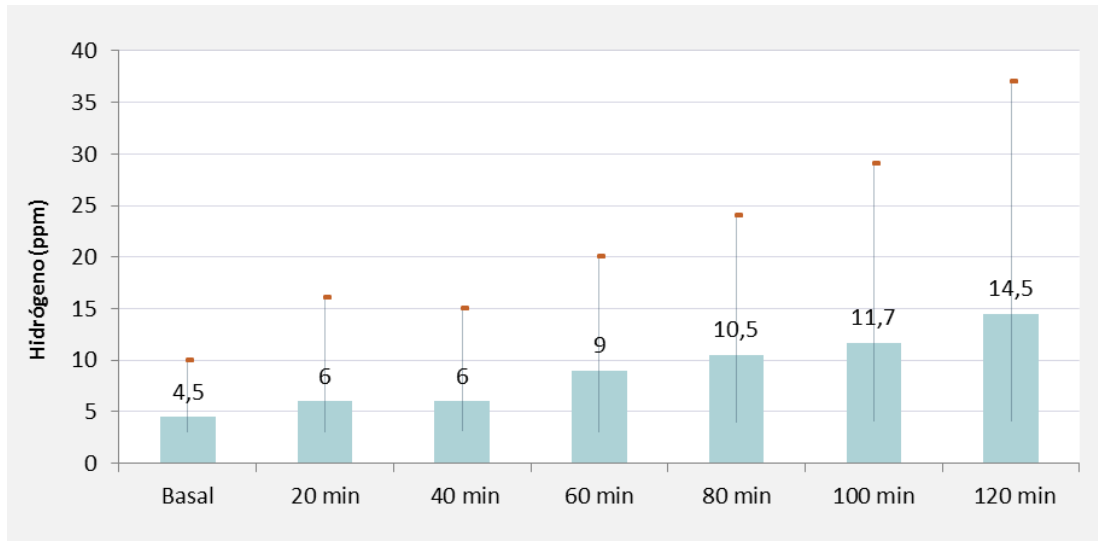


Figura 15: Mediana de concentración hidrógeno (p25-p75) de las muestras de aire espirado tomadas en intervalos de 20 minutos durante 2 horas.

5.2.2. Concentración de CH₄

La concentración de CH₄ en la población tampoco siguió una distribución normal (Figura 16).

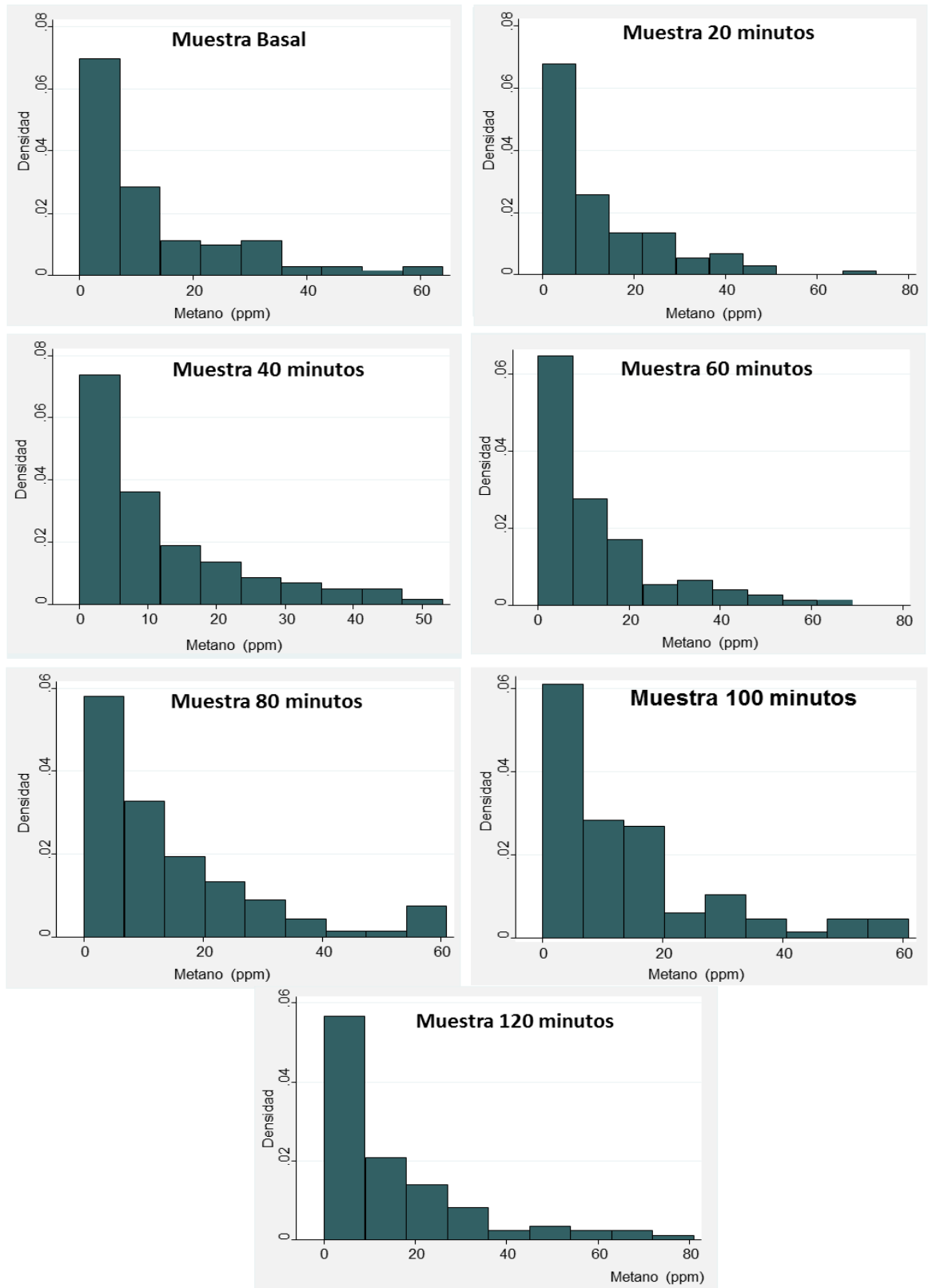


Figura 16: Distribución de la población en función de la concentración de metano (ppm) en cada una de los tiempos en los que se tomó muestra de aire espirado.

En la siguiente figura (Figura 17), se muestra la evolución de la mediana de concentración de CH₄ espirado en el aliento en cada uno de los tiempos registrados. A diferencia del H₂ espirado, las concentraciones en el tiempo no varían sustancialmente respecto al valor basal.

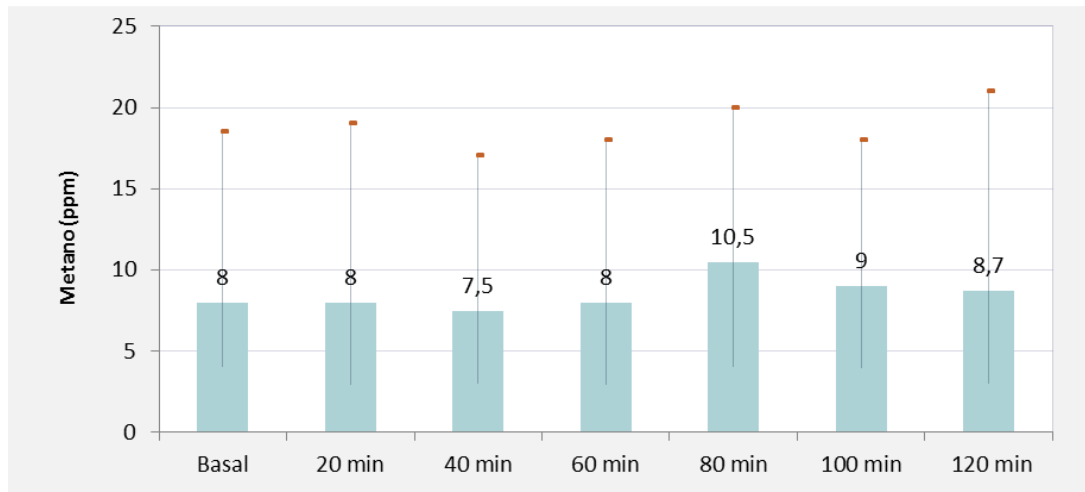


Figura 17: Mediana (p25-p75) de concentración de metano en cada una de las muestras de aire espirado tomadas en intervalos de 20 minutos durante 2 horas.

5.2.3. Prevalencia de SBID

La prevalencia de SBID según los criterios diagnósticos previamente expuestos se describe en la tabla 8.

	Número de pacientes	Prevalencia (%)
SBID	42	41,18
SBID-B	64	62,75
SBID-HM	67	65,69

Tabla 8: Prevalencia de SBID en función de las diferentes definiciones aceptadas en el estudio.

SBID: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado según los criterios de diagnóstico que contemplan: un aumento de más de 20 ppm en la curva del hidrógeno en algún punto de la curva, o un aumento de más de 12 ppm en la curva del metano en algún momento de la prueba, pero siempre antes de los primeros 90 minutos. SBID-B: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado que además contempla los valores basales de hidrógeno y metano por encima de 20 ppm como diagnósticos positivos, SBID-HM: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado que reúne todos los criterios anteriores y además, da como positivas aquellas pruebas en las que el hidrógeno se mantiene en el tiempo.

5.3. H₂ y CH₄ en el aire espirado y episodios adversos (Objetivo primario)

5.3.1. Episodio adverso combinado de muerte o ingreso por cualquier causa

5.3.1.1. H₂ y el episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por cualquier causa

La mediana (p25-p75) del H₂ total espirado en el test del aliento (AUC- H₂) fue 1290 (520-2430).

Se registraron un total de 53 episodios durante el periodo de seguimiento (mediana (p25-p75)) de 203 días (80-369). La figura 18 detalla la distribución de la concentración de H₂ recogido durante la prueba del SBID en función de haber presentado o no el episodio adverso que engloba la muerte y/o un ingreso por cualquier causa.

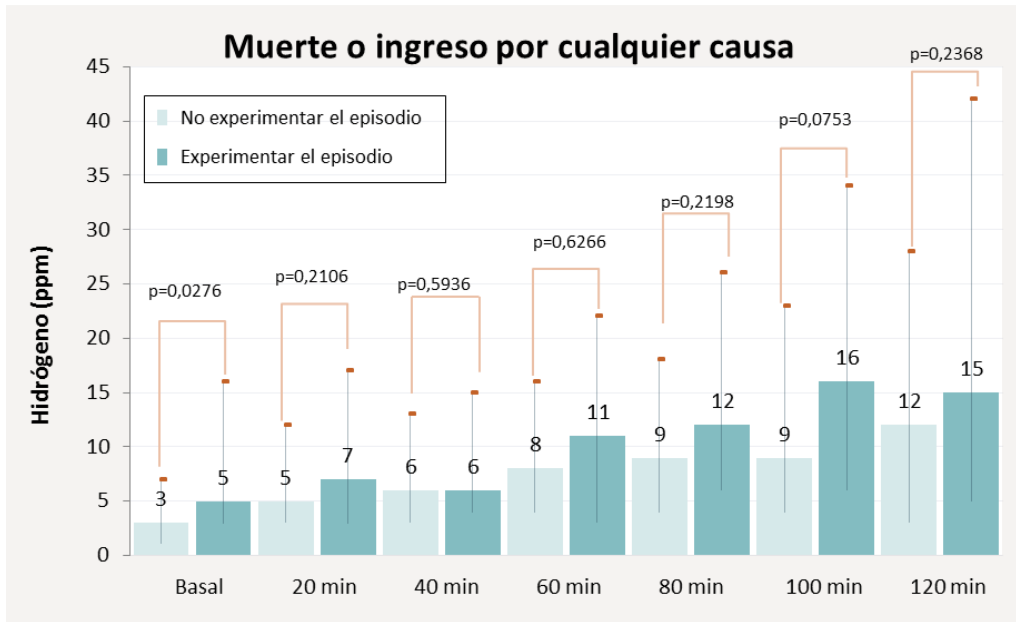


Figura 18: Mediana (p25-p75) de hidrógeno en las muestras de aire espirado tomado en intervalos de 20 minutos y el episodio combinado muerte o ingreso por cualquier causa.

En el análisis univariante, el AUC-H₂ (por el incremento de 1000 unidades) se asoció de forma independiente con el riesgo de fallecer o ingresar por cualquier causa (HR= 1,25; IC 95%:1,08-1,45; p=0,003). Del mismo modo, las curvas de Kaplan-Meier revelaron un aumento progresivo del riesgo de presentar el episodio vinculado a un aumento del AUC-H₂ (Figura 19). La curva que describe los pacientes del cuartil superior (Q4) refleja mayores tasas de riesgo en comparación con los demás cuartiles (p=0,012).

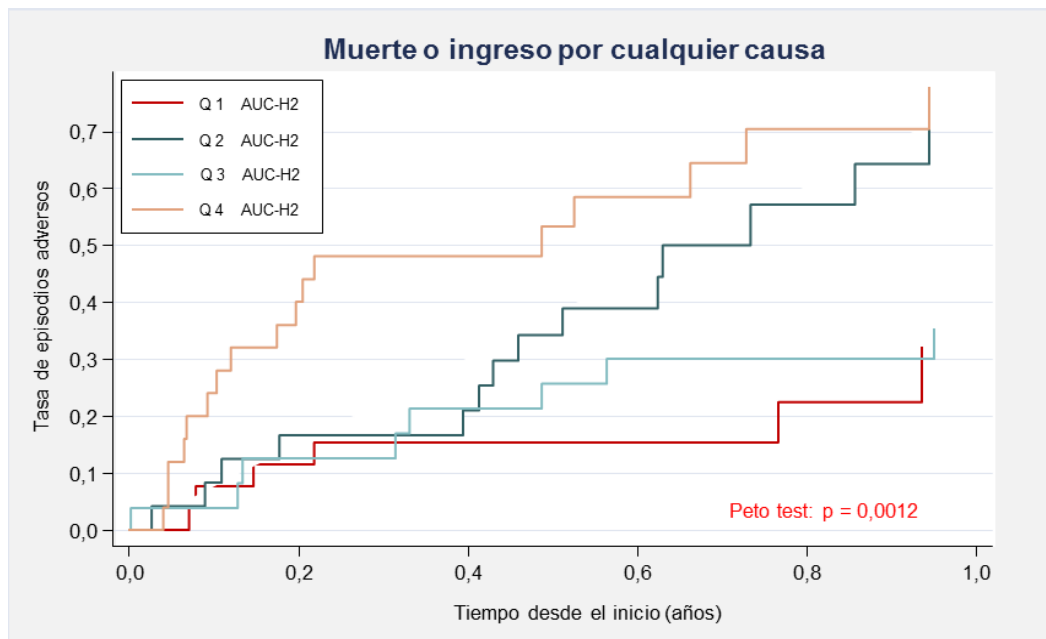


Figura 19 Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por cualquier causa y AUC-H2.

El análisis multivariante que incluyó como covariables la edad, la historia previa de diabetes mellitus, la clasificación NYHA, la FEVI, la frecuencia cardiaca y las dosis de diuréticos de asa en el momento de la prueba, también mostró una asociación positiva significativa y, por tanto, un incremento en el riesgo de sufrir el evento combinado de forma independiente (muerte o ingreso por cualquier causa) (HR=1,23; IC 95%:1,05-1,45; p=0,009).

5.3.1.2. CH₄ y el episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por cualquier causa

La mediana (p25-p75) del CH₄ acumulado en el test del aliento (AUC-CH₄) fue 985 (450-2120).

La concentración de CH₄ en el aire espirado a lo largo de la prueba se distribuyó según se muestra en la figura 20. De forma similar, se advierte una tendencia que refleja mayores concentraciones de CH₄ en los pacientes que fallecieron o ingresaron.

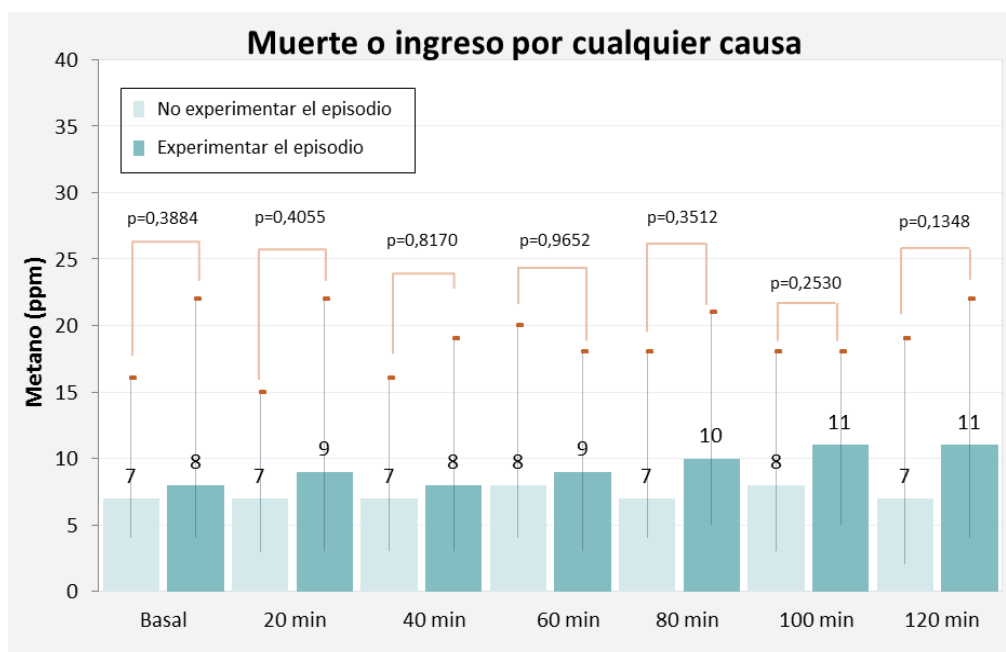


Figura 20. Mediana (p25-p75) de metano en las muestras de aire espirado del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y el episodio combinado muerte o ingreso por cualquier causa.

Tanto en el análisis univariante, como en el multivariante (ajustado por las covariables: edad, historia de diabetes mellitus, clase NYHA, FEVI, frecuencia cardiaca y dosis de diuréticos de asa en el momento de la prueba) y en las curvas de Kaplan-Meier (Figura 21) del AUC-CH₄ (por incremento de 1000 ppm) no se manifestó un incremento del riesgo de sufrir el evento combinado de forma independiente (HR= 1,02; IC 95%:0,87-1,20; p=0,800 y HR= 0,99; IC 95%:0,83-1,17; p=0,869, respectivamente).

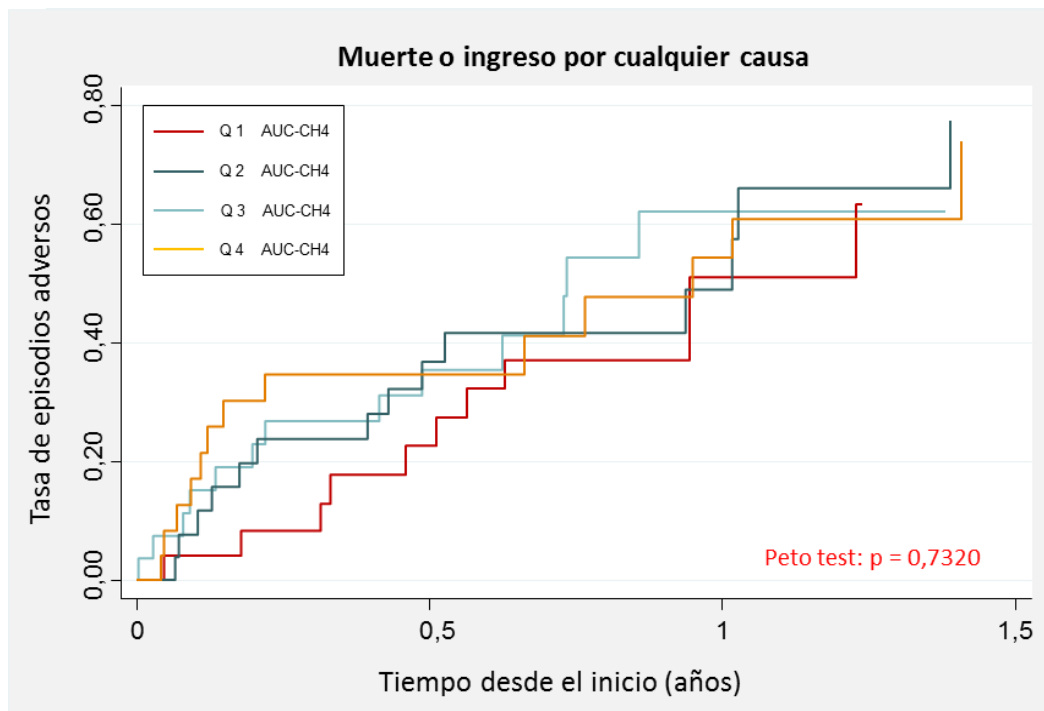


Figura 21: Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por cualquier causa y AUC-CH4.

5.3.1.3. H₂ y CH₄ total acumulado y el episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por cualquier causa

La mediana (p25-p75) de la combinación del área bajo la curva de la concentración de H₂ y CH₄ acumulado en el test del aliento (AUC-H₂-CH₄) fue de 2810 (1320-4320).

El riesgo atribuible a AUC-H₂-CH₄ (por el incremento de 1000 unidades) evaluado de manera continua sí se asoció significativamente con un incremento del riesgo de producirse el episodio adverso (el combinado de muerte o ingreso por cualquier causa) (HR=1,11, IC 95%: 1,01-1,23, p=0,043). Al estratificar AUC-H₂-CH₄ en

cuartiles, no se encontraron diferencias significativas entre los distintos grupos (Figura 22).

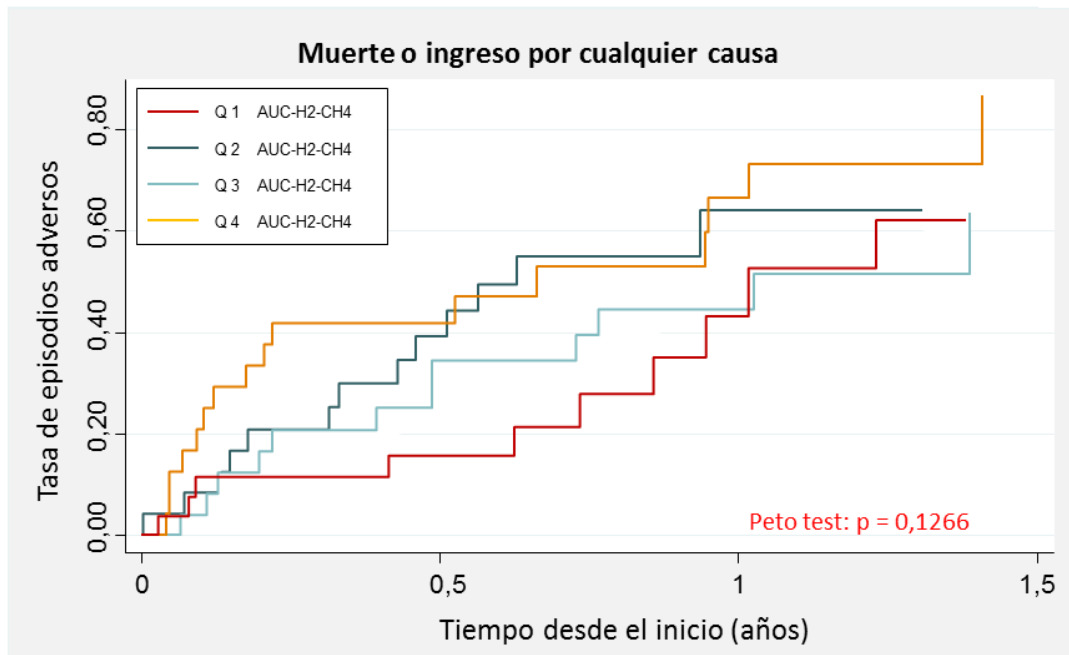


Figura 22: Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por cualquier causa y AUC-H2-CH4.

En cambio, en el análisis multivariante (ajustado por edad, historia de diabetes mellitus, clase NYHA, FEVI, frecuencia cardiaca, y dosis de diuréticos de asa) como covariables desapareció la significación estadística (HR=1,09, IC 95%: 0,97-1,21, p=0,117).

5.3.1.4. SBID y el episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por cualquier causa

En la tabla 9, se resumen los resultados del análisis del riesgo de presentar el episodio adverso que incluye la muerte o el ingreso por cualquier causa de AUC-H₂-CH₄.

	HR	IC (95%)	p
Análisis univariante			
SBID	0,98	0,56-1,72	0,952
SBID-B	1,14	0,64-2,02	0,653
SBID-HM	0,97	0,54-1,72	0,990
Análisis multivariante*			
SBID	0,88	0,48-1,63	0,691
SBID-B	0,92	0,51-1,70	0,800
SBID-HM	0,85	0,46-1,55	0,593

Tabla 9: Análisis univariante y análisis multivariante del riesgo de muerte o ingreso por cualquier causa asociados a cada una de las definiciones de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

* Modelo de regresión de Cox ajustado por edad, historia de diabetes mellitus, clasificación NYHA, FE, FC, y dosis de diuréticos de asa en el momento de la prueba.

SBID: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado según los criterios de diagnóstico que contemplan: un aumento de más de 20 ppm en la curva del hidrógeno en algún punto de la curva, o un aumento de más de 12 ppm en la curva del metano en algún momento de la prueba pero siempre antes de los primeros 90 minutos. SBID-B: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado que además contempla los valores basales de hidrógeno y metano por encima de 20 ppm como diagnósticos positivos, SBID-HM: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado que reúne todos los criterios anteriores y además, da como positivas aquellas pruebas en las que el hidrógeno se mantiene en el tiempo.

5.3.2. Episodio adverso combinado de muerte, ingreso por todas las causas o visitas a urgencias

5.3.2.1. Relación entre el H₂ y el episodio adverso combinado de muerte, ingreso por todas las causas y/o visitas a urgencias

Durante una mediana (p25-p75) de 173 (54-256) días de seguimiento se registraron 69 episodios adversos de este tipo.

En la figura 23 se puede observar una tendencia hacia una mayor concentración de H₂ en los resultados del test de SBID de los pacientes que sufrieron algún episodio adverso (muerte, ingreso hospitalario o una visita al servicio de urgencias) durante el seguimiento.

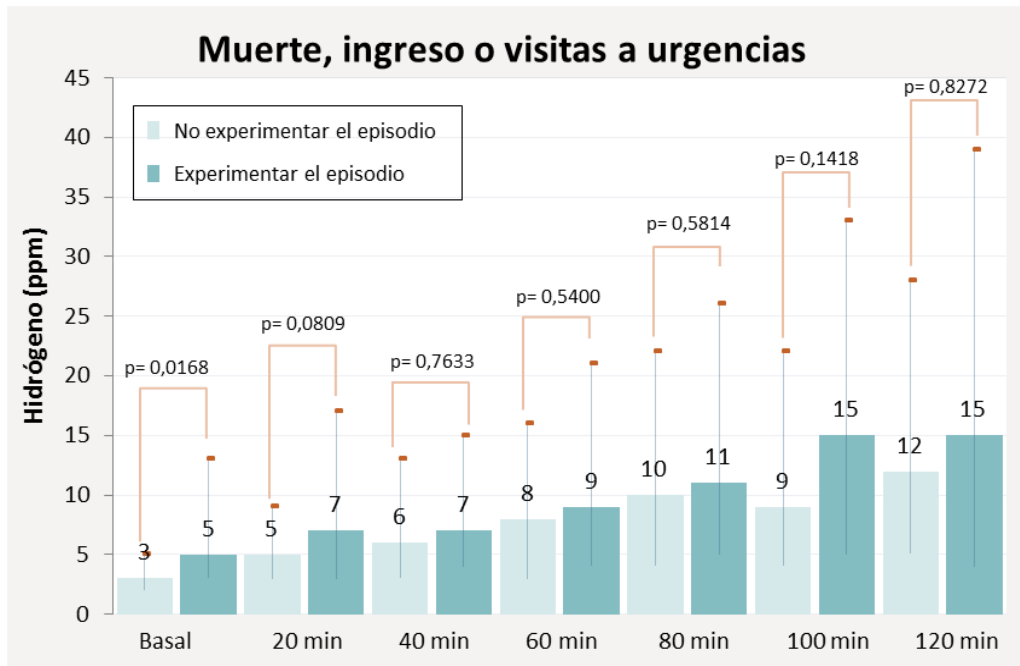


Figura 23. Mediana (p25-p75) de hidrógeno en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y el episodio combinado más completo.

El AUC-H₂ (por el incremento de 1000 unidades) evaluada como variable continua, resultó asociarse con un incremento del riesgo de presentar el episodio este episodio adverso (muerte, el ingreso hospitalario o las visitas a la puerta de urgencias), se alcanzó la significación estadística en el análisis univariante (HR=1,19, IC 95%: 1,04-1,36, p=0,011).

En la figura 24, se puede observar cómo la curva que describe a los pacientes del cuartil superior se corresponde con tasas mayores del episodio adverso de forma que, a medida que se avanza en el tiempo, se alcanzan valores más elevados. El valor estadístico que representa la diferencia entre cuartiles no es significativo pero se encuentra en el borde de la significación.

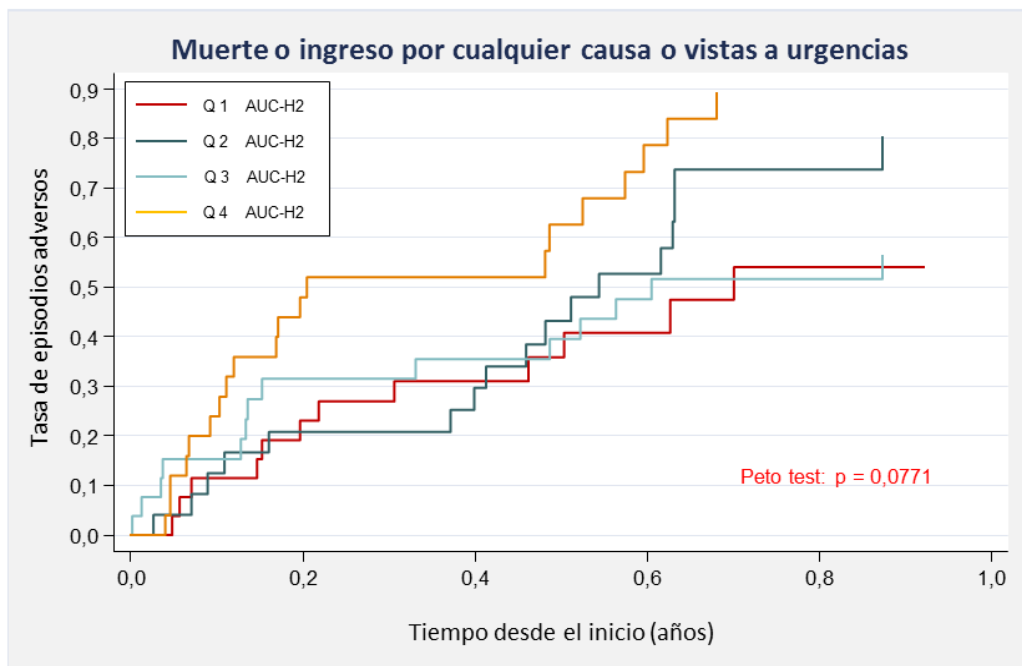


Figura 24: Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte, ingreso por cualquier causa o visitas a urgencias estratificadas por cuartiles de AUC-H2.

En el análisis del riesgo multivariante (ajustado por diabetes mellitus, clase NYHA, historia de bloqueo de rama en el ECG, FEVI, frecuencia cardiaca, urea, sodio y dosis de diuréticos de asa se obtuvo una relación directa e independiente del AUC-H₂ con el riesgo de experimentar el episodio adverso más completo (HR=1,27, IC 95%: 1,09-1,47, p=0,002).

5.3.2.2. Relación entre el CH₄ y el episodio adverso combinado de muerte, ingreso por todas las causas y/o visitas a urgencias

Al examinar la distribución de la concentración CH₄ en el aire espirado recogido en la prueba del SBID, no se encontraron diferencias entre grupos (aquellos que experimentaron el episodio adverso combinado y los que no) (Figura 25).

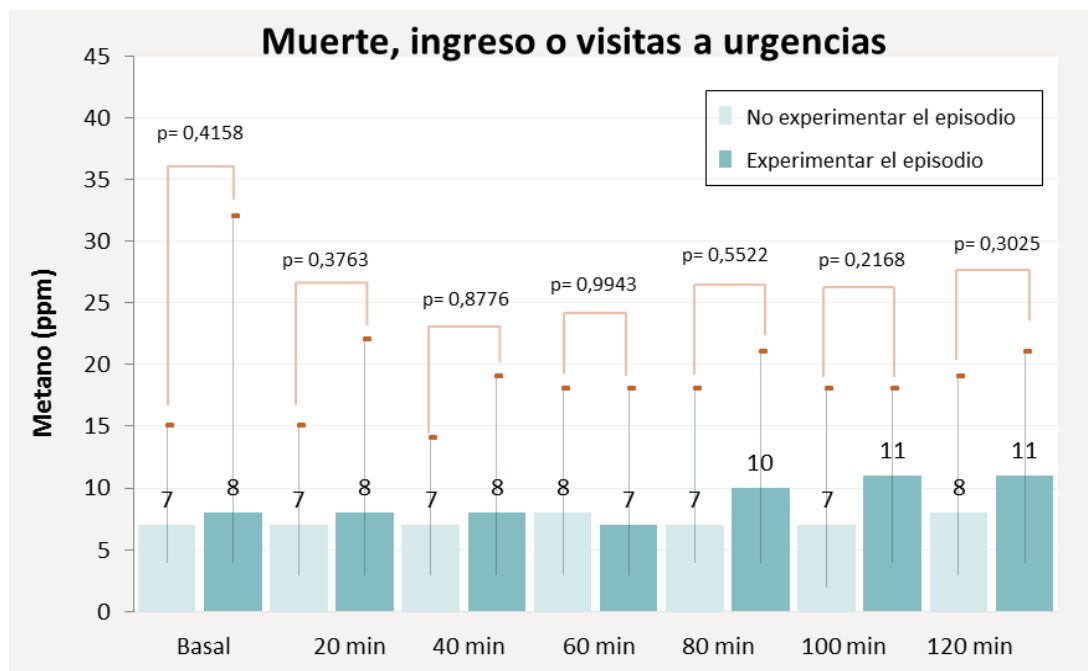


Figura 25: Mediana (p25-p75) de metano en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y el episodio combinado más completo.

El análisis univariante del riesgo de producirse el episodio adverso combinado tratado en este apartado asociado al AUC-CH₄ (por el incremento de 1000 unidades), no mostró relación independiente (HR=1,04, IC 95%: 0,91-1,19, p=0,594). Las curvas de Kaplan-Meier tampoco revelaron cambios de trayectoria entre los grupos con el tiempo (Figura 26).

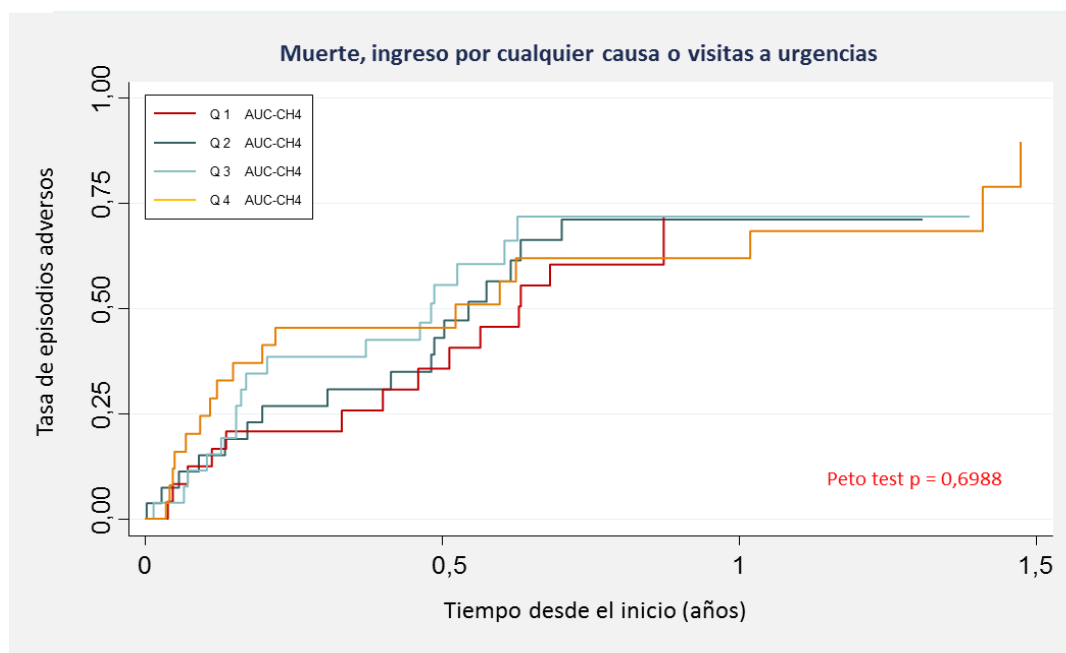


Figura 26: Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte, ingreso por cualquier causa o visitas a urgencias y AUC-CH4.

En el análisis multivariante que incluyó como covariables: edad, diabetes mellitus, clase NYHA, bloqueo de rama en el ECG, FEVI, frecuencia cardiaca, urea, sodio y dosis de diuréticos de asa, el resultado del análisis de riesgo fue similar (HR=0,97, IC 95%: 0,83-1.13, $p=0,696$).

5.3.2.3. Relación entre el H₂ y el CH₄ total acumulado y el episodio adverso combinado de muerte, ingreso por todas las causas y/o visita a urgencias

El análisis univariante del acumulado de ambos gases (AUC-H₂-CH₄ por el incremento de 1000 unidades) mostró una tendencia hacia el aumento del riesgo de sufrir el episodio adverso combinado que incluye las visitas a urgencias, que casi logró la significación estadística (HR=1,09, IC 95%: 0,99-1.19, $p=0,059$). En cambio, en las

curvas de Kaplan-Meier, no se advierten cambios entre cuartiles de población (Figura 27).

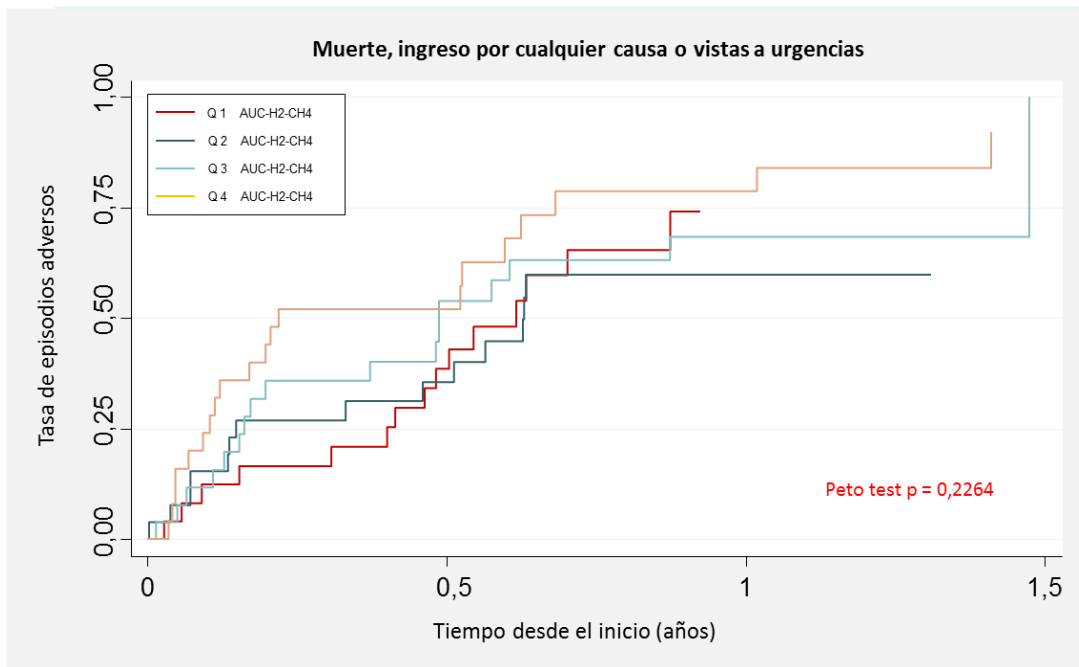


Figura 27: Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte, ingreso por cualquier causa o visitas a urgencias y AUC-H2-CH4.

Del mismo modo, el análisis multivariante (ajustado por edad, diabetes mellitus, clase NYHA, historia de bloqueo de rama en el ECG, FEVI, frecuencia cardiaca, urea, sodio y dosis de diuréticos de asa) generó resultados neutros al evaluar el riesgo (HR=1,09, IC 95%: 0,98-1.20, p=0,115).

5.3.2.4. SBID y el episodio adverso combinado de muerte, ingreso por cualquier causa y/o visitas al servicio de urgencias

La tabla 10 resume los análisis del riesgo de presentar este episodio relacionados con el SBID. En el análisis multivariante se ajustó por edad, diabetes

mellitus, clase NYHA, historia de bloqueo de rama en el ECG, FEVI, frecuencia cardiaca, urea, sodio y dosis de diuréticos de asa.

	HR	IC (95%)	p
Análisis univariante			
SBID	0,98	0,60-1,60	0,940
SBID-B	1,11	0,67-1,82	0,866
SBID-HM	1,15	0,69-1,90	0,598
Análisis multivariante*			
SBID	1,13	0,64-1,99	0,669
SBID-B	0,99	0,54-1,72	0,979
SBID-HM	1,12	0,64-1,95	0,698

Tabla 10: Análisis univariante y análisis multivariante del riesgo de muerte, ingreso por cualquier causa o visitas a urgencias asociados a cada una de las definiciones de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

SBID: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado según los criterios de diagnóstico que contemplan: un aumento de más de 20 ppm en la curva del hidrógeno en algún punto de la curva, o un aumento de más de 12 ppm en la curva del metano en algún momento de la prueba, pero siempre antes de los primeros 90 minutos. SBID-B: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado que además contempla los valores basales de hidrógeno y metano por encima de 20 ppm como diagnósticos positivos, SBID-HM: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado que reúne todos los criterios anteriores y además, da como positivas aquellas pruebas en las que el hidrógeno se mantiene en el tiempo.

5.3.3. Mortalidad

5.3.3.1. H₂ y mortalidad

Durante una mediana de seguimiento de 310 días (RIC=140-415), se registraron un total de 22 muertes (21,6%).

La mediana (p25-p75) de la concentración de H₂ a cada tiempo fue mayor en los pacientes que murieron, diferencias que fueron significativas en la toma de aire

basal (10 ppm (4-21) vs. 3 ppm (2-8), $p=0,007$) y a los 20 minutos (15ppm (6-22) vs. 5 ppm (3-13), $p=0,007$).

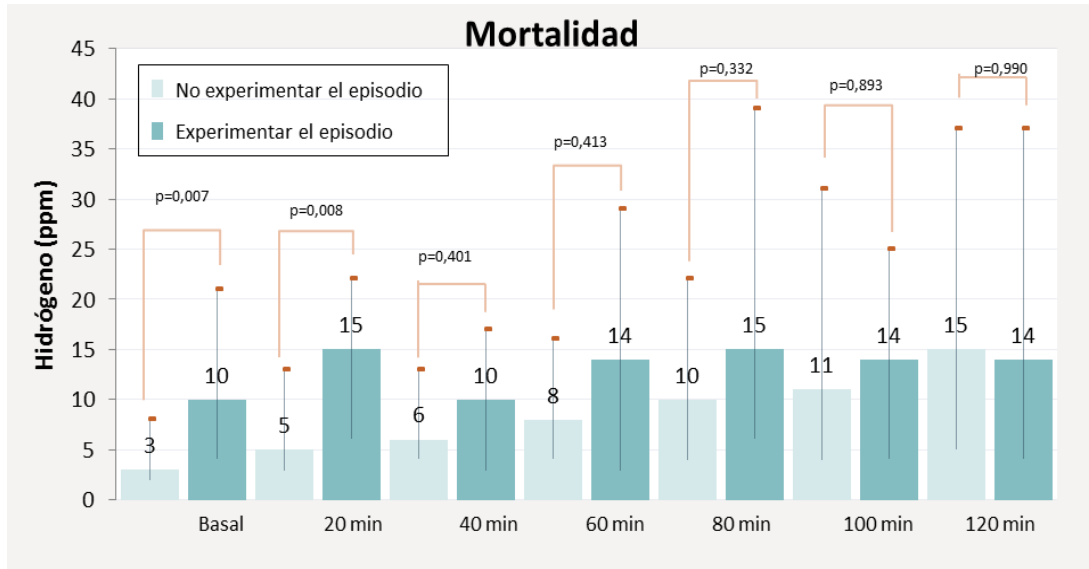


Figura 28: Mediana (p25-p75) de hidrógeno en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y mortalidad.

En el análisis de supervivencia (tiempo hasta la muerte), el AUC-H₂ evaluado como variable continua no se asoció de forma independiente con la muerte (HR=1,08, IC 95%: 0,88-1,33; $p=0,454$). Del mismo modo, tampoco se encontraron diferencias significativas entre los cuartiles de AUC-H₂, pese a que los pacientes del cuartil superior mostraron un riesgo de muerte superior. Así lo muestra la siguiente figura (Figura 29).

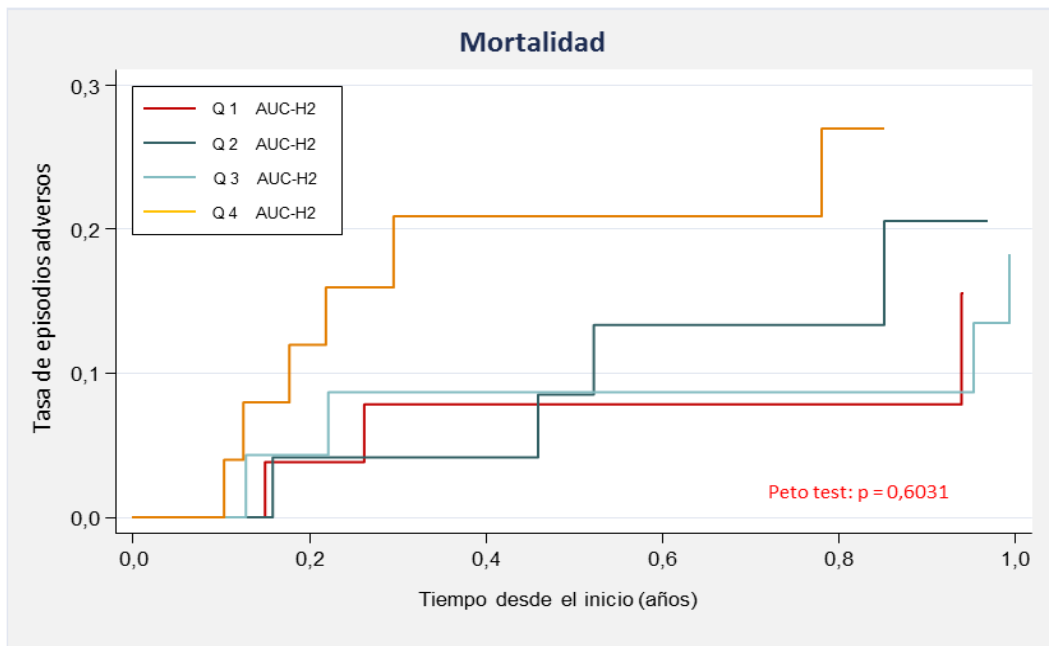


Figura 29: Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier estratificado por cuartiles de AUC-H₂.

En el análisis multivariante, ajustado por edad y sexo como covariables (limitado a éstas por el reducido número de muertes), el riesgo atribuible al AUC-H₂ (por incremento en 1000 unidades) evaluado de manera continua y asumiendo linealidad de riesgo, no mostró una asociación significativa con un incremento en el riesgo de muerte (HR= 1,20; IC 95%: 0,94-1,54; p=0,138).

5.3.3.2. CH₄ y mortalidad

La mediana (p25-p75) del CH₄, en cada medición, fue siempre mayor en los pacientes que experimentaron el episodio. Las diferencias entre los pacientes que fallecieron y los que no, fueron significativas o mostraron una tendencia (Figura 30).

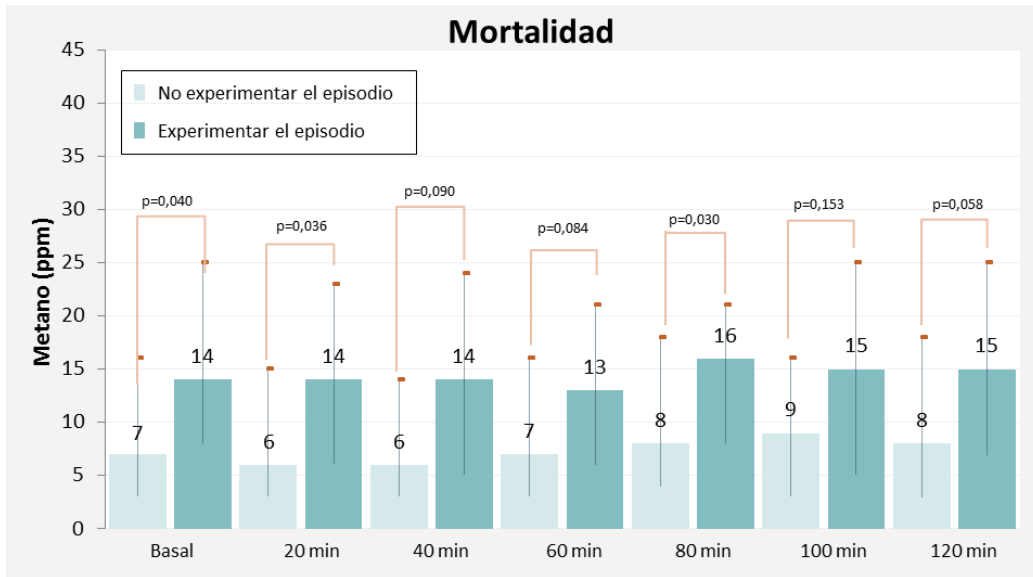


Figura 30: Mediana (p25-p75) de metano en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y mortalidad.

En el análisis de supervivencia univariante del AUC-CH₄ (por incremento en 1000 unidades) no hubo asociación independientemente con el riesgo muerte (HR=1,17, IC 95%: 0,94-1,44; p=0,154). Las curvas de Kaplan-Meier no reflejaron cambios entre cuartiles de AUC-CH₄ (Figura 31).

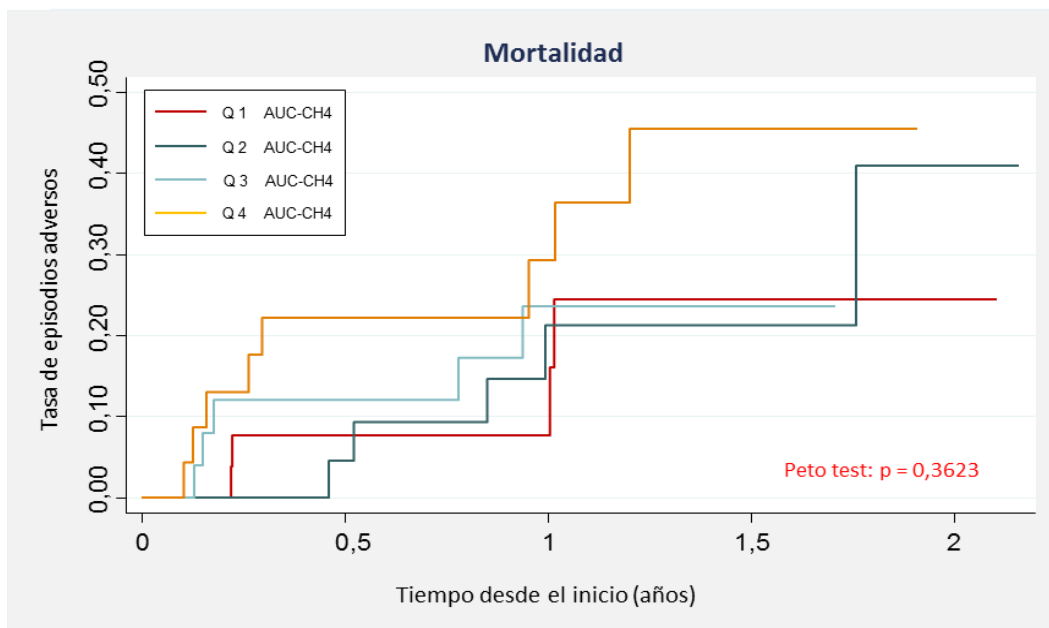


Figura 31: Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier estratificado por cuartiles de AUC-CH₄.

En el análisis multivariante ajustado por edad y sexo, la asociación de AUC-CH₄ por incremento en 1000 unidades con el riesgo de experimentar el episodio fue positiva sin llegar a alcanzar diferencias significativas (HR= 1,06; IC 95%: 0,85-1,32; p=0,600).

5.3.3.3. Relación entre la combinación de H₂ y CH₄ acumulado con la mortalidad

En el análisis univariante, AUC-H₂-CH₄ (por incremento en 1000 unidades) no se asoció con el riesgo muerte de forma aislada (HR=1,12, IC 95%: 0,97-1,30, p=0,130).

Al estratificar AUC-H₂-CH₄ en cuartiles (figura 32) se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los mismos (p=0,036). Cabe destacar que la trayectoria de las curvas correspondientes a los cuartiles superiores es similar, y la trayectoria definida por el cuartil inferior (Q1) se mantiene en el valor más bajo durante la mayor parte del tiempo. Estos resultados pueden deberse al escaso número de episodios registrados.

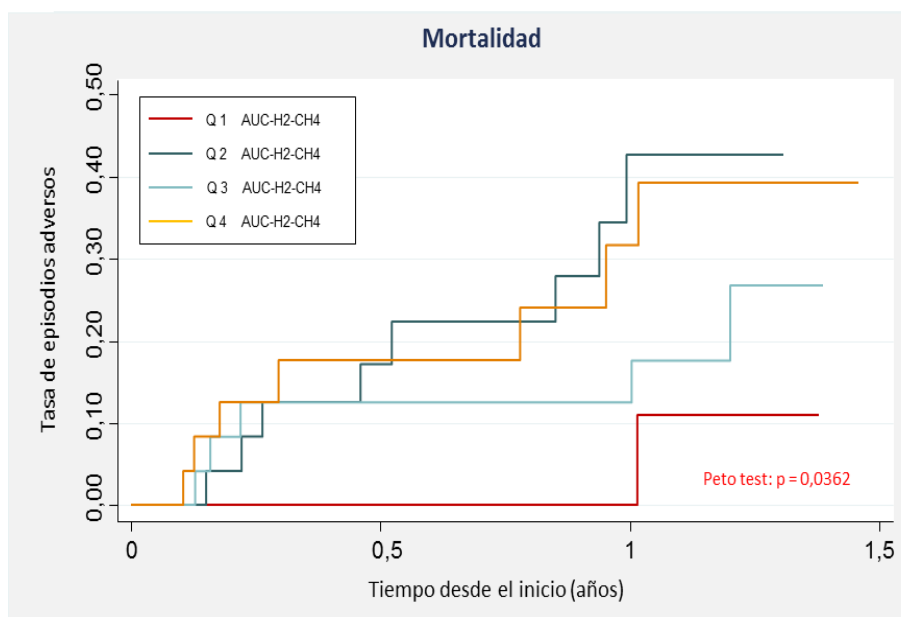


Figura 32: Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier estratificado por cuartiles de AUC-H₂-CH₄.

En el análisis multivariante ajustado por edad y sexo, dicha asociación tampoco alcanzó la significación estadística (HR=1,11; IC 95%:0,95-1,30, p=0,196).

5.3.3.4. SBID y mortalidad

En relación a las diferentes definiciones de SBID y el riesgo de muerte, ninguna de ellas se asoció independientemente con el riesgo de muerte (tabla 11).

	HR	IC (95%)	Valor p
Análisis univariante			
SBID	1,01	0,43 - 4,36	0,990
SBID-B	1,94	0,71 - 5,26	0,194
SBID-HM	1,54	0,57 - 4,20	0,397
Análisis multivariante*			
SBID	0,91	0,38 - 2,16	0,826
SBID-B	1,84	0,67 - 5,00	0,235
SBID-HM	1,43	0,52 - 3,92	0,489

Tabla 11: Análisis univariante y análisis multivariante del riesgo de muerte asociado a cada una de las definiciones de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

* Modelo de regresión de Cox ajustado por edad y sexo.

SBID: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado según los criterios de diagnóstico que contemplan: un aumento de más de 20 ppm en la curva del hidrógeno en algún punto de la curva, o un aumento de más de 12 ppm en la curva del metano en algún momento de la prueba pero siempre antes de los primeros 90 minutos. SBID-B: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado que además contempla los valores basales de hidrógeno y metano por encima de 20 ppm como diagnósticos positivos, SBID-HM: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado que reúne todos los criterios anteriores y además, da como positivos aquellas pruebas en las que el hidrógeno se mantiene en el tiempo

5.3.4. Episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por IC aguda

5.3.4.1. H₂ y el episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por IC aguda

Durante una mediana (p25-p75) de 251 días (104-375) se registraron 38 episodios de muerte y/o reingreso por IC aguda.

La mediana (p25-p75) del H₂ en el aire espirado para cada tiempo fue mayor en los pacientes que experimentaron este episodio combinado (Figura 33).

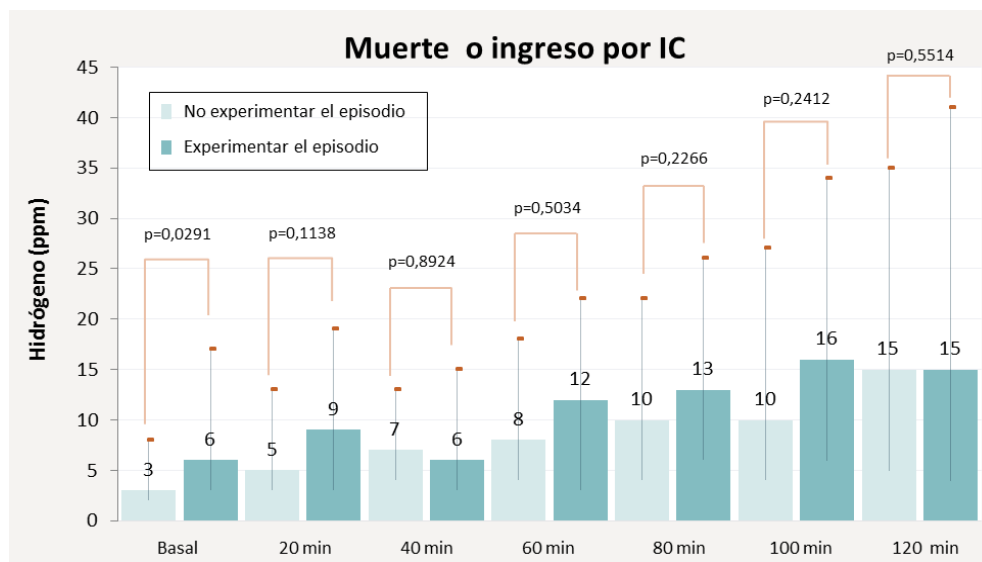


Figura 33: Mediana de hidrógeno (p25-p75) en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y el episodio combinado muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca.

En el análisis univariante, el AUC-H₂ (por incremento en 1000 ppm) no se asoció con el riesgo de presentar el episodio adverso combinado que incluye los reingresos por IC (HR= 1,10; IC 95%: 0,94-1,28; p=0,245). Sin embargo las curvas de Kaplan-Meier,

mostraron un incremento significativo del riesgo en aquellos pacientes del cuartil superior (Figura 34).

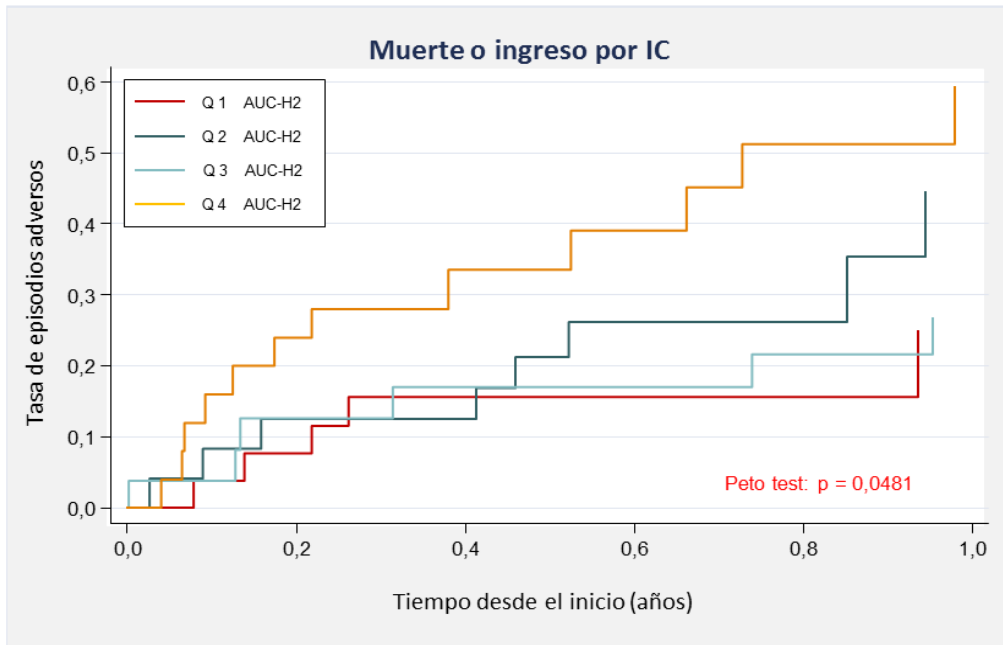


Figura 34: Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca y AUC-H2.

En un análisis multivariante, ajustado por sexo, ingreso previo por IC y descompensación en los últimos 30 días, los valores del AUC-H₂ permanecieron neutros con respecto a esta variable dependiente (HR= 1,08; IC 95%:0,90-1,30; p=0,427).

5.3.4.2. CH₄ y episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por IC aguda

La mediana (p25-p75) de la concentración de CH₄ para cada tiempo de toma de muestra fue generalmente mayor en los pacientes que experimentaron el episodio combinado (Figura35).

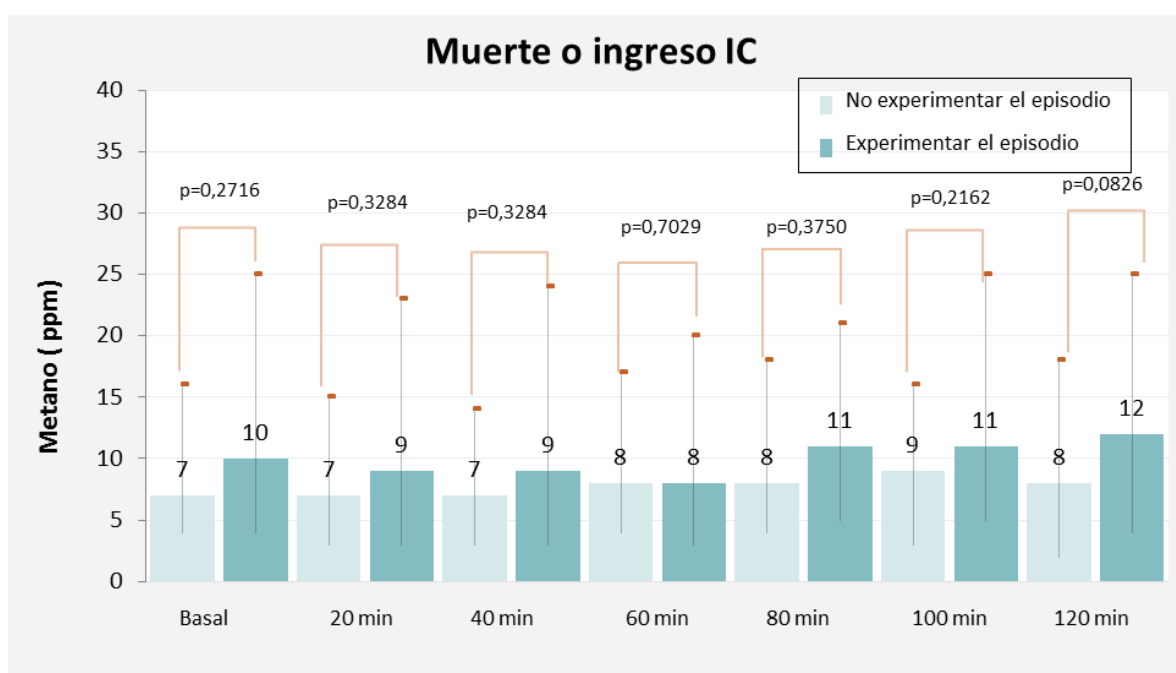


Figura 35 Mediana (p25-p75) de metano en las muestras de aire espirado recogidas en intervalos de 20 minutos durante la prueba del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y el episodio combinado muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca.

En el análisis univariante, el AUC- CH₄ (por el incremento de 1000 unidades) no se asoció con el riesgo de presentar muerte y/o reingreso por IC (HR= 1,09; IC 95%: 0,92-1,30; p=0,318). Las curvas de Kaplan-Meier tampoco mostraron diferencias significativas (figura 36).

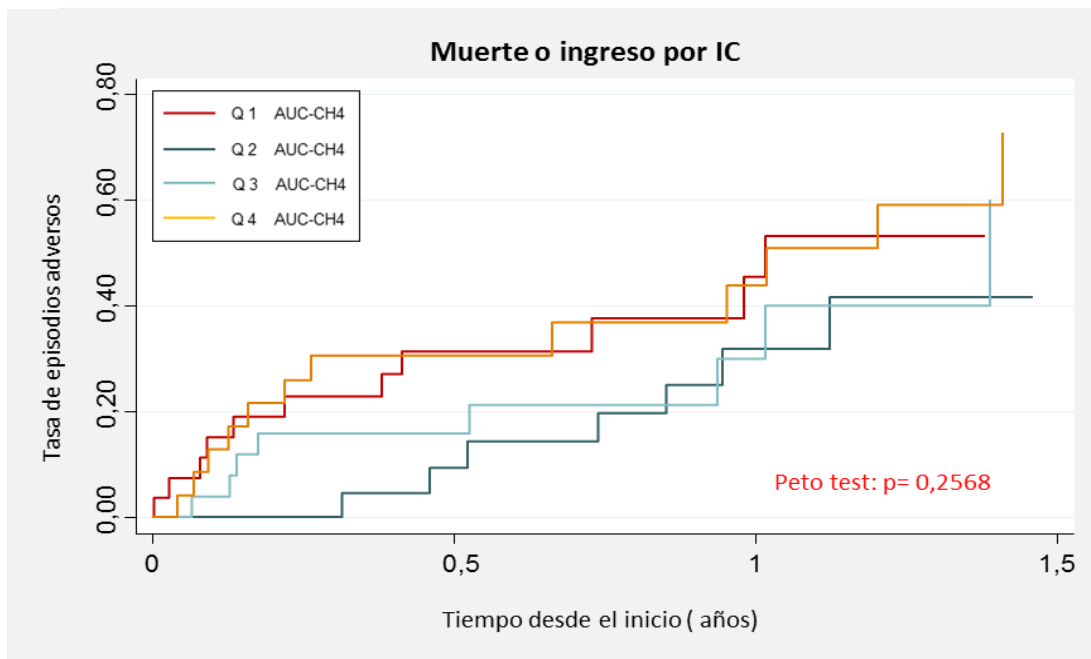


Figura 36: Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca y AUC-CH₄.

En el análisis multivariante ajustado por sexo, ingreso previo por IC y descompensación en los últimos 30 días, los valores del AUC-CH₄ (por el incremento de 1000 unidades) permanecieron neutros con respecto a esta variable dependiente (HR= 1,01; IC 95%:0,83-1,21; p=0,978).

5.3.4.3. H₂ Y CH₄ total acumulado y el episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por IC aguda

Cuando se evaluó de forma continua la cantidad total de ambos gases (por el incremento de 1000 unidades) frente al riesgo de presentar este evento, se observó que no existía una relación independiente entre dichas variables (HR= 1,09; IC 95%:0,97-1,23; p=0,131). Las curvas de Kaplan-Meier tampoco mostraron cambios entre los grupos (figura 37).

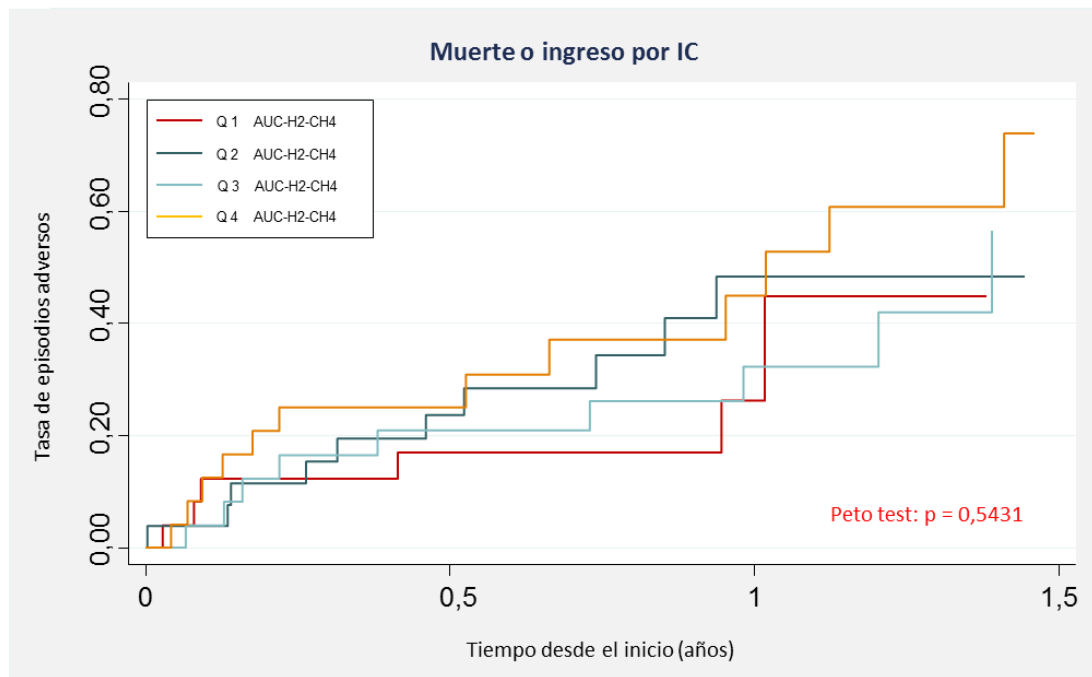


Figura 37: Curvas de Kaplan-Meier. Episodio combinado muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca y AUC-H2-CH4.

Al añadir el sexo, la existencia de un ingreso previo por IC y una descompensación en los últimos 30 días como covariables en el análisis multivariante no se encontró asociación independiente con el riesgo de sufrir el evento (HR= 1,06; IC 95%:0,93-1,20; p=0,403).

5.3.4.4. SBID y el episodio adverso combinado de muerte y/o ingreso por IC aguda

El SBID siguió el mismo patrón que las anteriores variables (Tabla 12).

	HR	IC (95%)	p
Análisis univariante			
SBID	0,92	0,48 - 1,78	0,826
SBID-B	1,07	0,55 – 2,10	0,367
SBID-HM	0,94	0,47-1,87	0,853
Análisis multivariante			
SBID	0,77	0,40 - 1,50	0,261
SBID-B	0,80	0,40 - 1-59	0,520
SBID-HM	0,68	0,34 – 1,38	0,291

Tabla 12: Análisis univariante y análisis multivariante del riesgo de muerte o ingreso por insuficiencia cardiaca aguda asociados a cada una de las definiciones de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado.

* Modelo de regresión de Cox ajustado por sexo, ingreso previo y descompensación en los últimos 30 días.

SBID: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado según los criterios de diagnóstico que contemplan: un aumento de más de 20 ppm en la curva del hidrógeno en algún punto de la curva, o un aumento de más de 12 ppm en la curva del metano en algún momento de la prueba pero siempre antes de los primeros 90 minutos. SBID-B: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado que además contempla los valores basales de hidrógeno y metano por encima de 20 ppm como diagnósticos positivos, SBID-HM: Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado que reúne todos los criterios anteriores y además, da como positivas aquellas pruebas en las que el hidrógeno se mantiene en el tiempo.

5.4. Hospitalizaciones recurrentes

5.4.1. Ingresos por todas las causas

Durante el seguimiento, se contabilizaron 100 ingresos hospitalarios en 49 pacientes (48%). Su distribución se muestra en la figura 38.

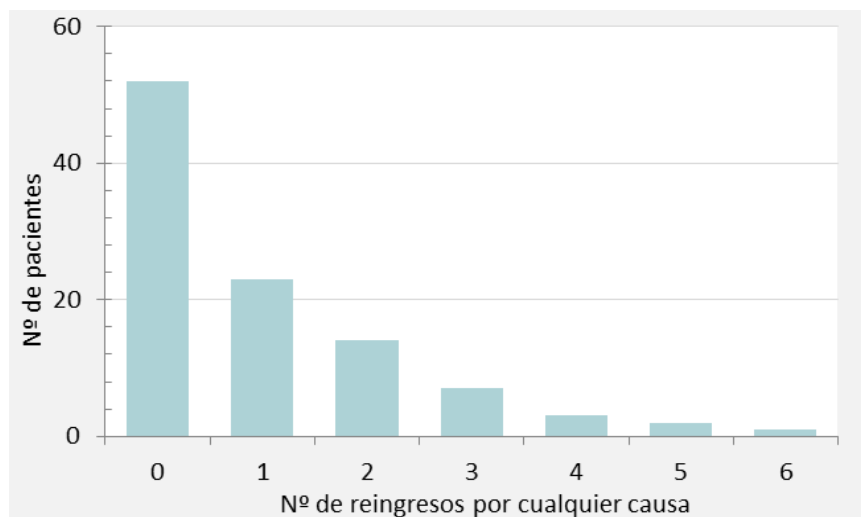


Figura 38: Número de pacientes que experimentaron ingresos repetidos.

5.4.1.1. Relación de los ingresos por todas las causas con el AUC-H₂

El análisis univariante manifestó la existencia de una asociación estadísticamente significativa y lineal entre AUC-H₂ y el aumento del riesgo de presentar ingresos repetidos (IRR=1,20; IC 95%:1,03-1,40; p=0,019) (Figura 39).

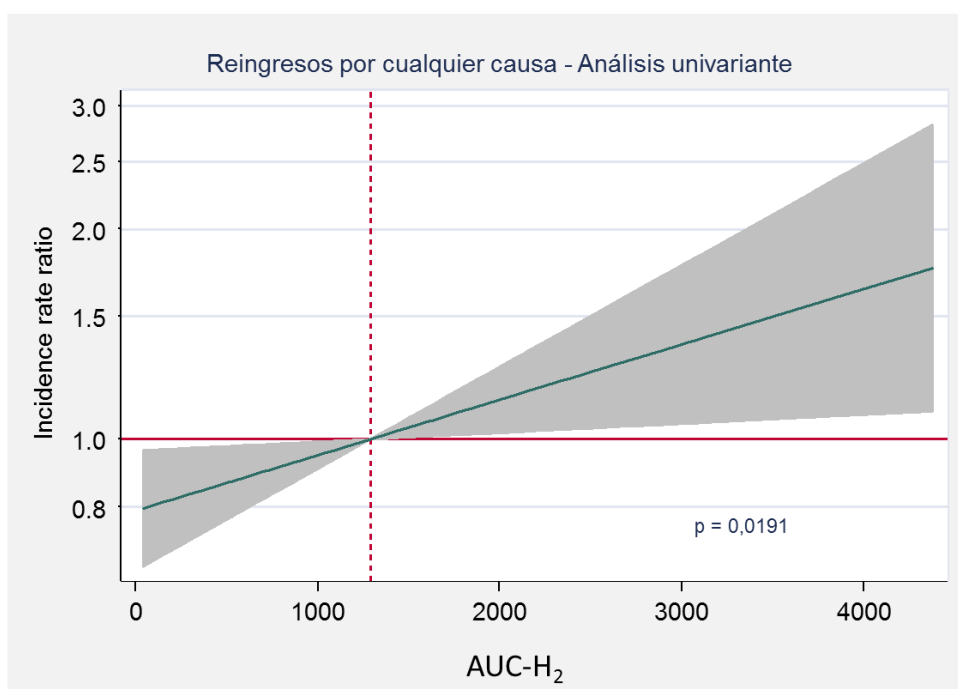


Figura 39: Relación entre AUC-H₂ y el riesgo de reingresar por cualquier causa.

En el análisis multivariante, esta asociación se mantuvo dentro de la significación estadística (IRR=1,14; IC 95%:1,03-1,27; p=0,014) (Figura 40) tras ajustar por edad, sexo, ingreso previo por IC, descompensación previa documentada (con o sin ingreso) en los últimos 30 días, diabetes mellitus, presión arterial sistólica y urea.

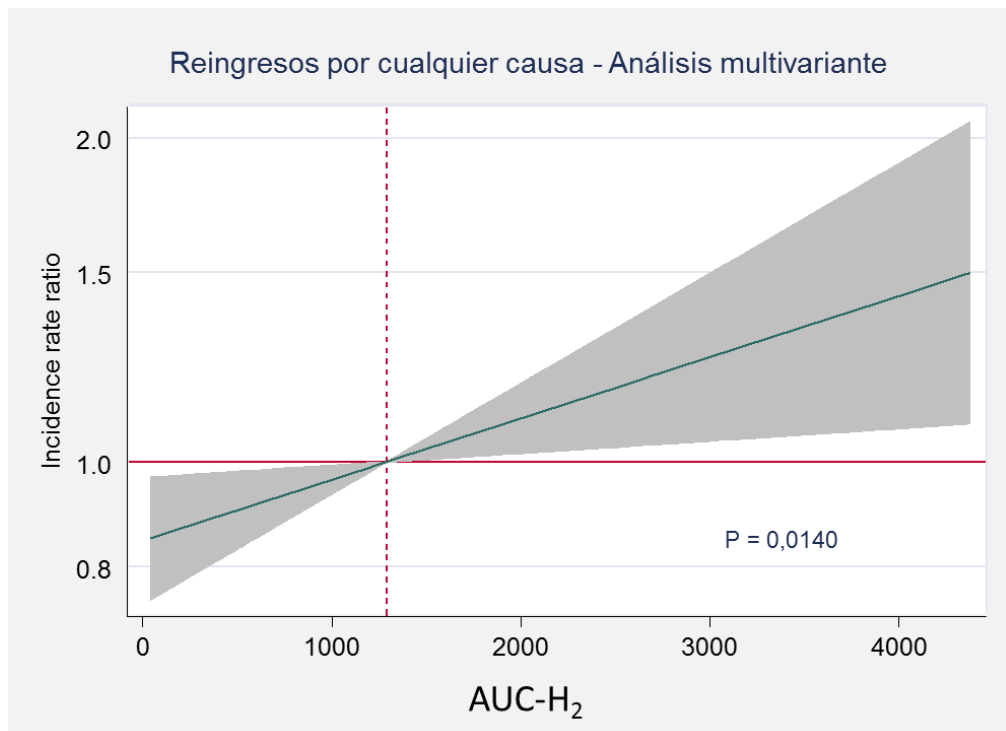


Figura 40: Análisis multivariante de AUC-H₂ y riesgo de reingreso por cualquier causa.

5.4.1.2. Relación de los ingresos por todas las causas con el AUC-CH₄

AUC-CH₄ no se asoció de forma significativa con un mayor riesgo de reingreso recurrente (IRR=1,15; IC 95%:0,92-1,42; p=0,216) (Figura 41).

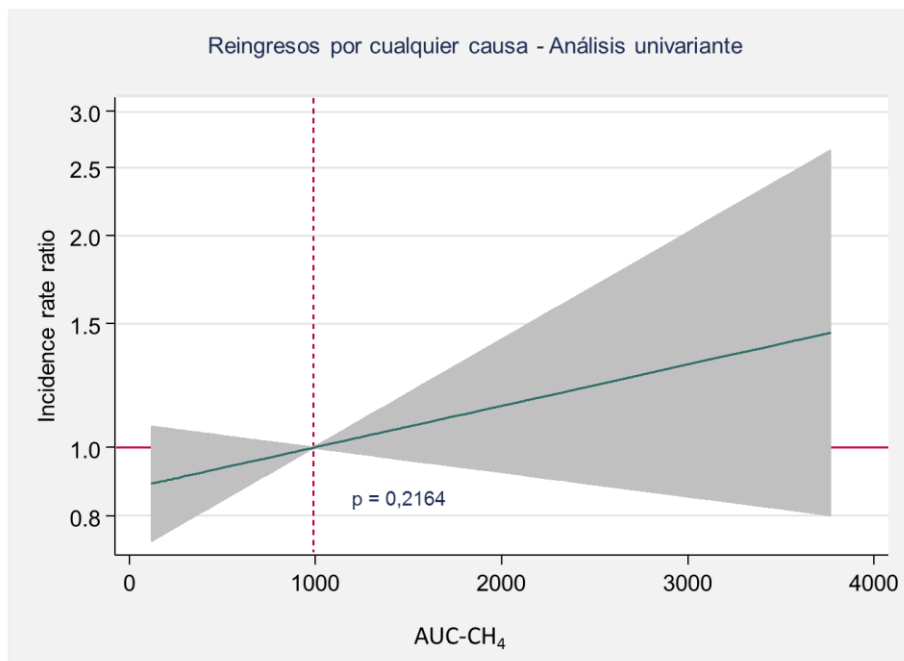


Figura 41: Relación entre AUC-CH₄ y riesgo de reingreso por cualquier causa.

Al ajustar el modelo estadístico por edad, sexo, presión arterial sistólica, ingreso previo por IC, descompensación previa reciente y diabetes mellitus, los resultados permanecieron inalterados (IRR=1,05; IC 95%:0,88-1,25; p=0,580) en cuanto a la aparición de un mayor riesgo, como se refleja en la figura 42.

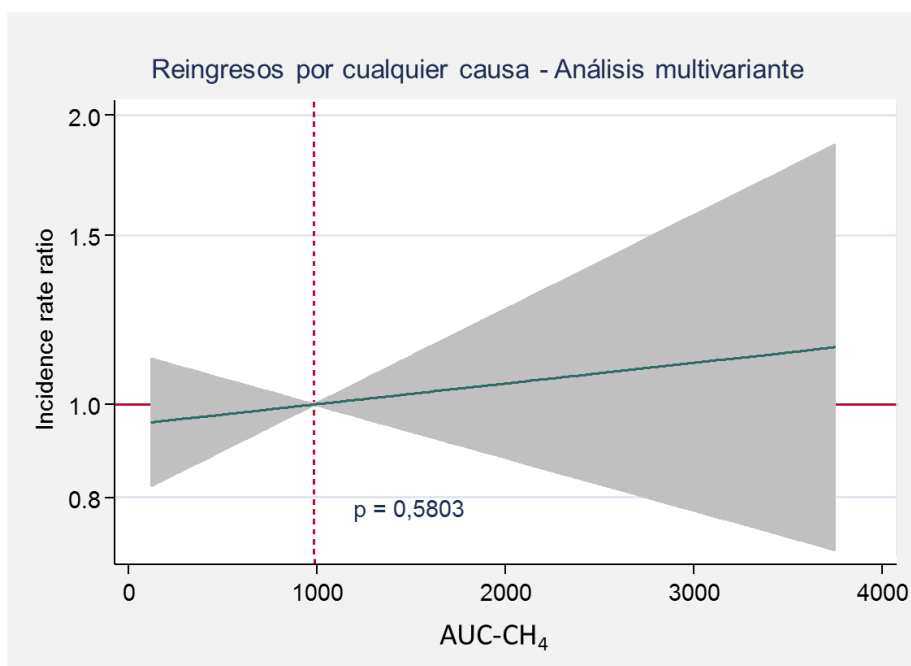


Figura 42: Análisis multivariante de AUC-CH₄ y el riesgo de reingreso por cualquier causa.

5.4.1.3. Relación del AUC-H₂-CH₄ y los ingresos por todas las causas

En el análisis univariante AUC-H₂-CH₄, se asoció con un mayor riesgo de hospitalizaciones recurrentes (IRR=1,15; IC 95%: 1,03-1,28; p=0,010), al igual que AUC-H₂ (Figura 43).

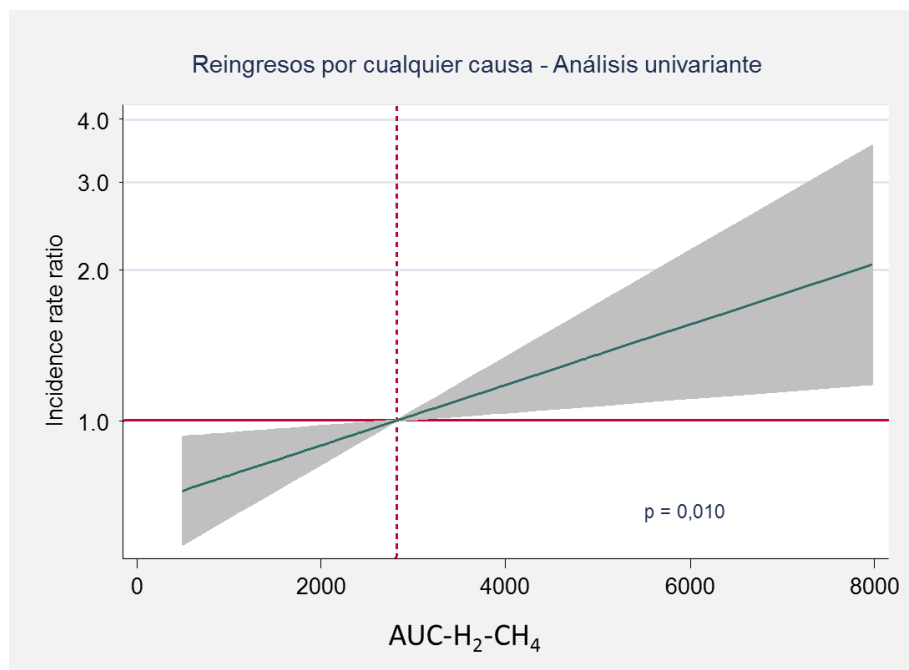


Figura 43: Análisis univariante de AUC-H₂-CH₄ y el riesgo de reingresar por todas las causas.

Esta asociación permaneció inalterada tras ajustar por edad, sexo, ingreso previo por IC, descompensación previa en los últimos 30 días, diabetes mellitus, presión arterial sistólica y urea, (IRR=1,09; IC 95%: 1,00-1,18; p=0,043) como se muestra en la figura 44.

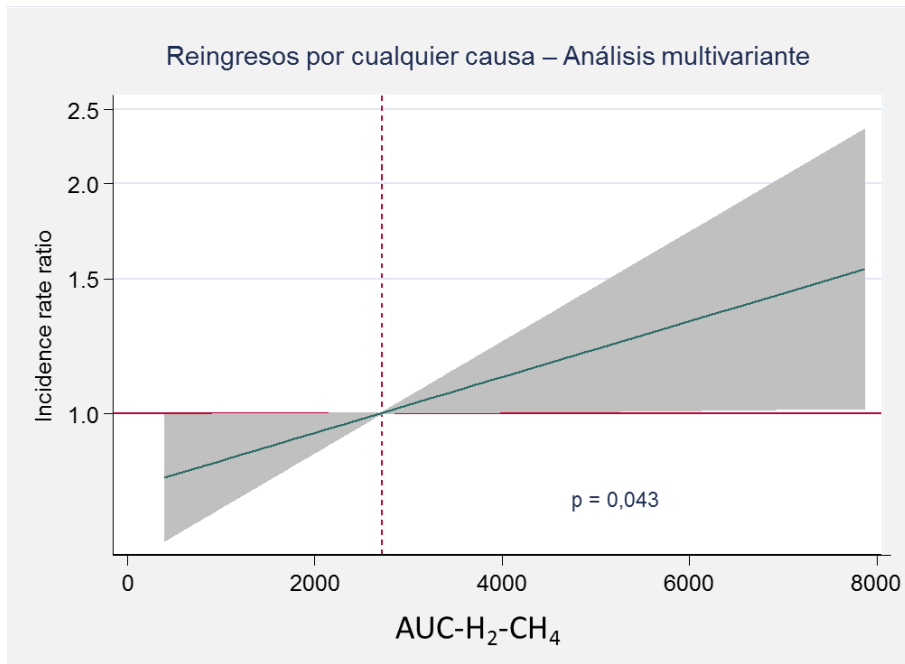


Figura 44: Análisis multivariante del AUC-H₂-CH₄ y el riesgo de reingresar por cualquier causa.

5.4.2. Ingresos por IC aguda

Durante el seguimiento se registraron 51 reingresos por IC aguda en 26 pacientes (25,5%). La distribución de los mismos se muestra en la figura 45.

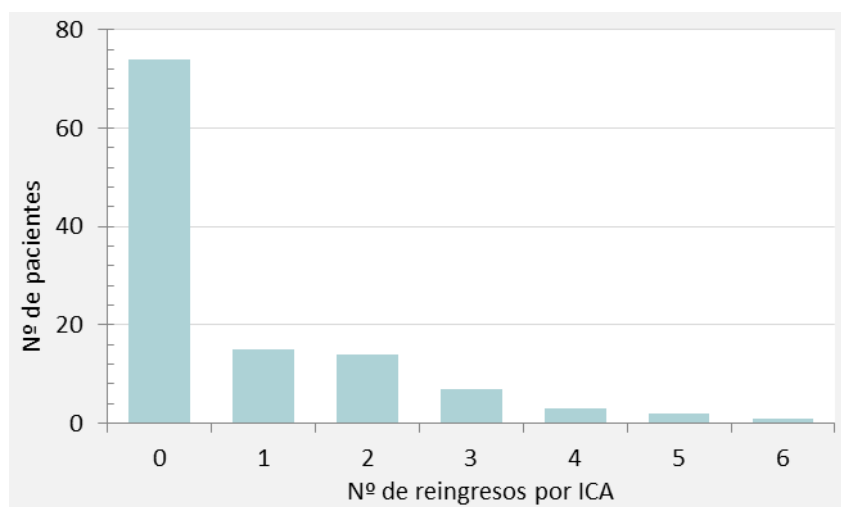


Figura 45: Número de pacientes que reingresaron por insuficiencia cardiaca aguda y el número de ingresos que presentaron.

5.4.2.1. Relación entre el AUC-H₂ y los ingresos por IC aguda

En el análisis univariante AUC-H₂ se asoció de manera lineal con un mayor riesgo de ingresos repetidos (IRR=1,29; IC 95%:1,03-1,62; p=0,028) (Figura 46).

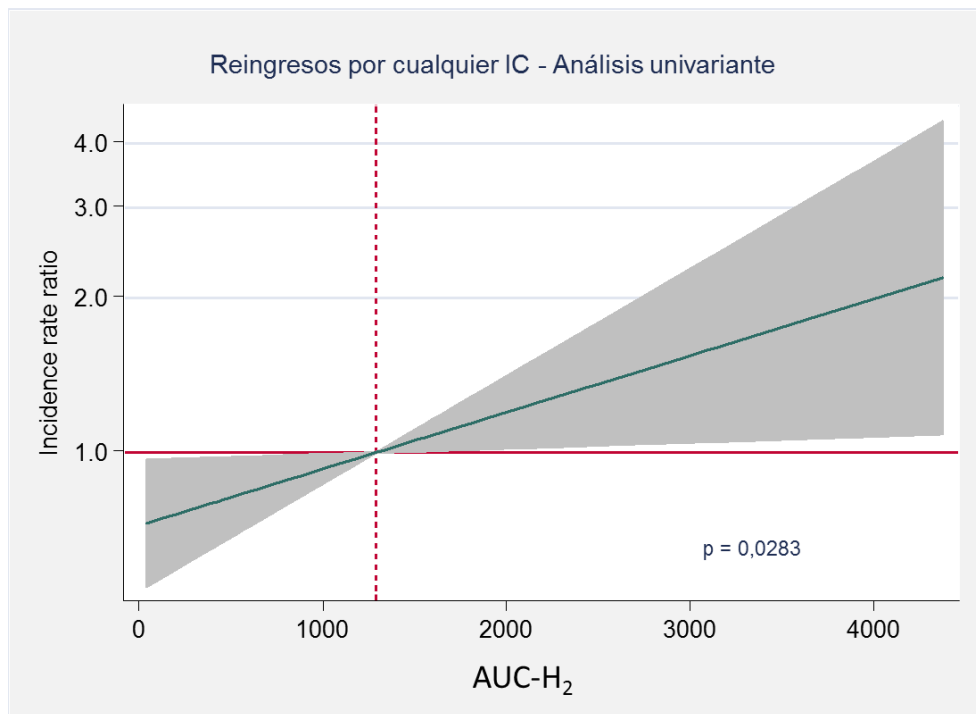


Figura 46: Análisis univariante de AUC-H₂ y el riesgo de reingresar por insuficiencia cardíaca aguda.

En el análisis multivariante, tras ajustar por edad, sexo, diabetes mellitus, ingreso previo por IC, frecuencia cardíaca, sodio y urea, se observó un mayor riesgo de reingreso para valores de AUC-H₂ (IRR=1,27; IC 95%:1,06-1,52; p=0,010), como se puede apreciar en la figura 47.

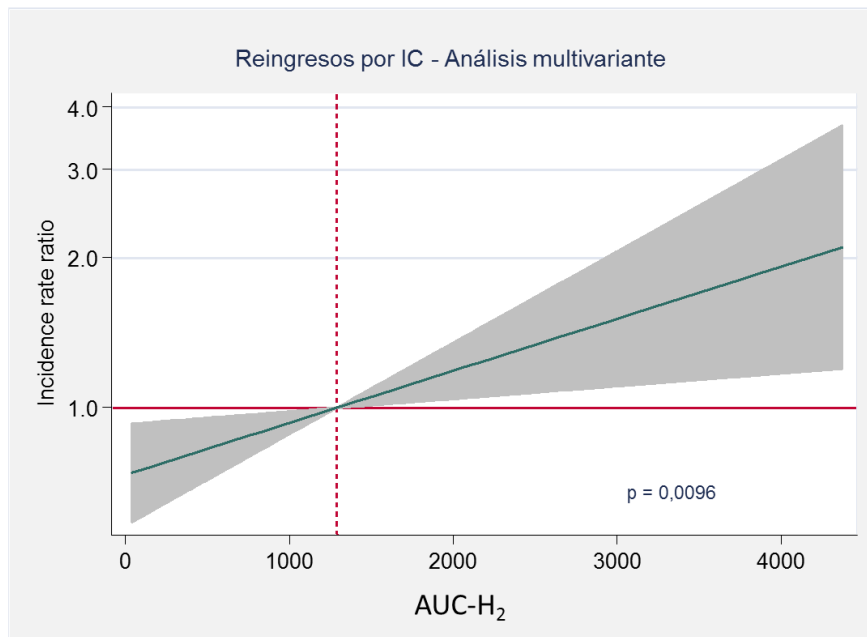


Figura 47: Análisis multivariante: AUC-H₂ y reingresos por insuficiencia cardiaca aguda.

5.4.2.2. Relación entre el AUC-CH₄ y los ingresos por IC aguda

En el análisis univariante AUC-CH₄ no se asoció con un mayor riesgo de reingresos recurrentes por IC aguda (IRR=1,07; IC 95%:0,77-1,48; p=0,691) (Figura 48).

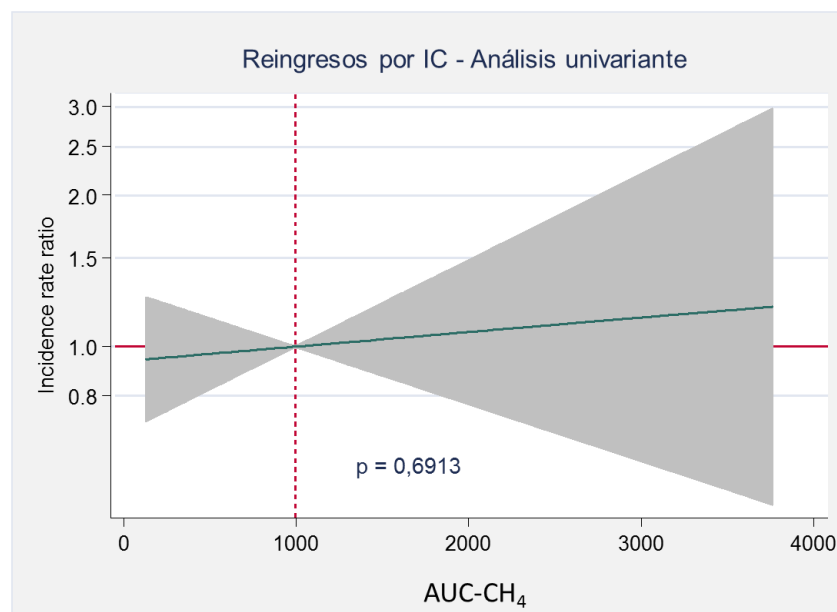


Figura 48: Análisis univariante: AUC-CH₄ y riesgo de reingresos recurrentes por insuficiencia cardiaca aguda.

En el análisis multivariante (ajustado por edad, sexo, diabetes mellitus, ingreso previo por IC, descompensación reciente, sodio y urea) tampoco se observó un mayor riesgo de reingreso por IC aguda (IRR=1,07; IC 95%:0,77-1,32; p=0,963).

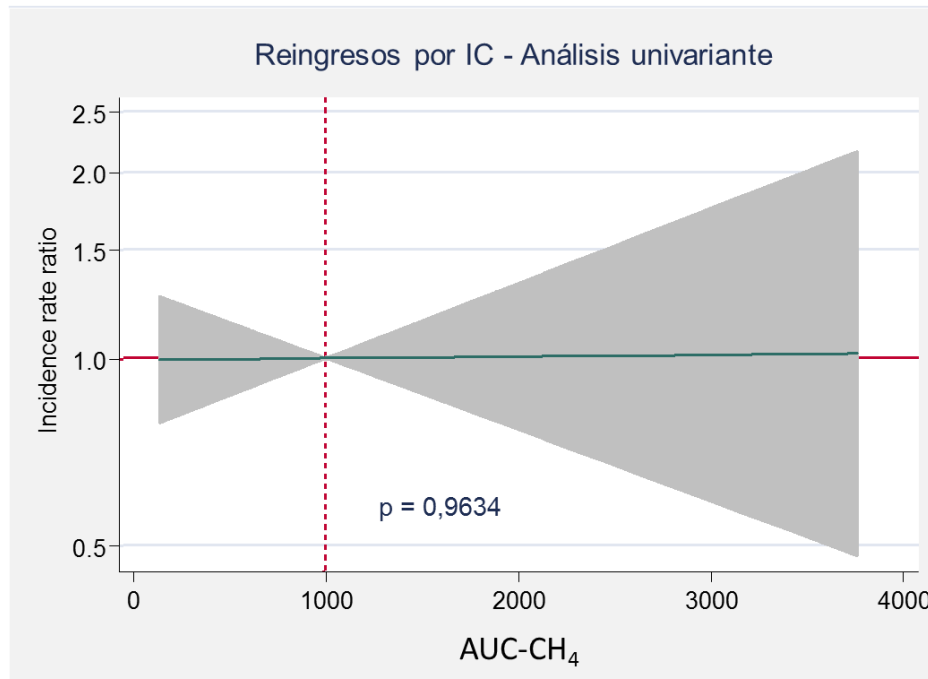


Figura 49: Análisis multivariante. AUC-CH₄ y riesgo de reingresos recurrentes por insuficiencia cardíaca aguda.

5.4.2.3. Relación entre el AUC-H₂-CH₄ y los ingresos por IC aguda.

AUC-H₂-CH₄ mostró una tendencia hacia un mayor riesgo de ingresos repetidos por IC aguda (IRR=1,15; IC 95%:0,99-1,35; p=0,074) (Figura 50), asociación que llegó a ser significativa tras el ajuste multivariante (modelo de regresión ajustado por edad, sexo, diabetes mellitus, ingreso previo por IC, frecuencia cardíaca, sodio y urea) (IRR=1,18; IC 95%:1,03-1,36; p=0,021) (Figura 51).

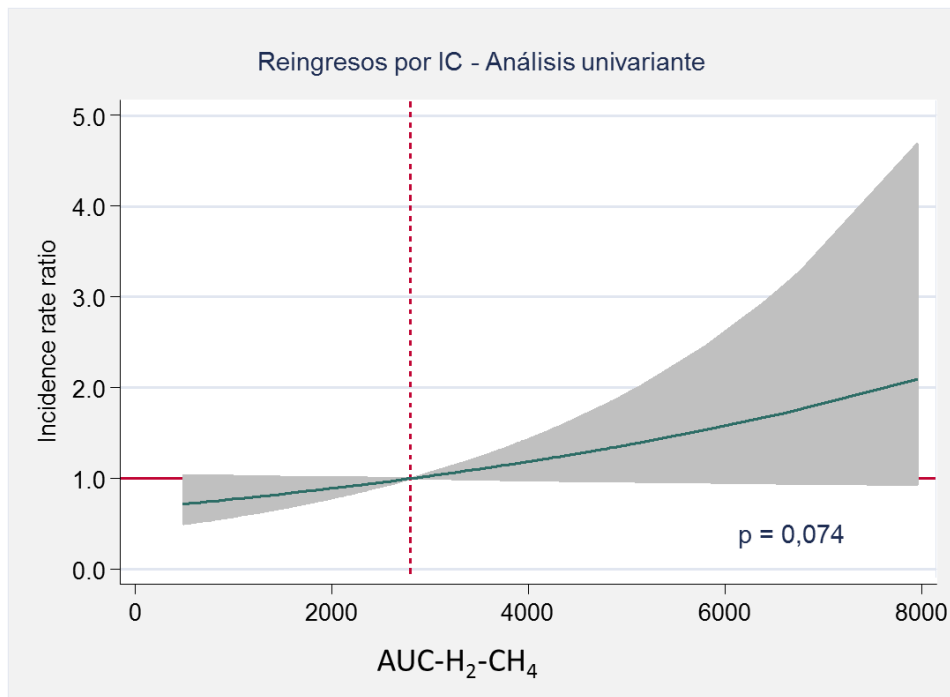


Figura 50: Análisis univariante. AUC-H₂-CH₄ y riesgo de reingresos repetidos por insuficiencia cardiaca aguda.

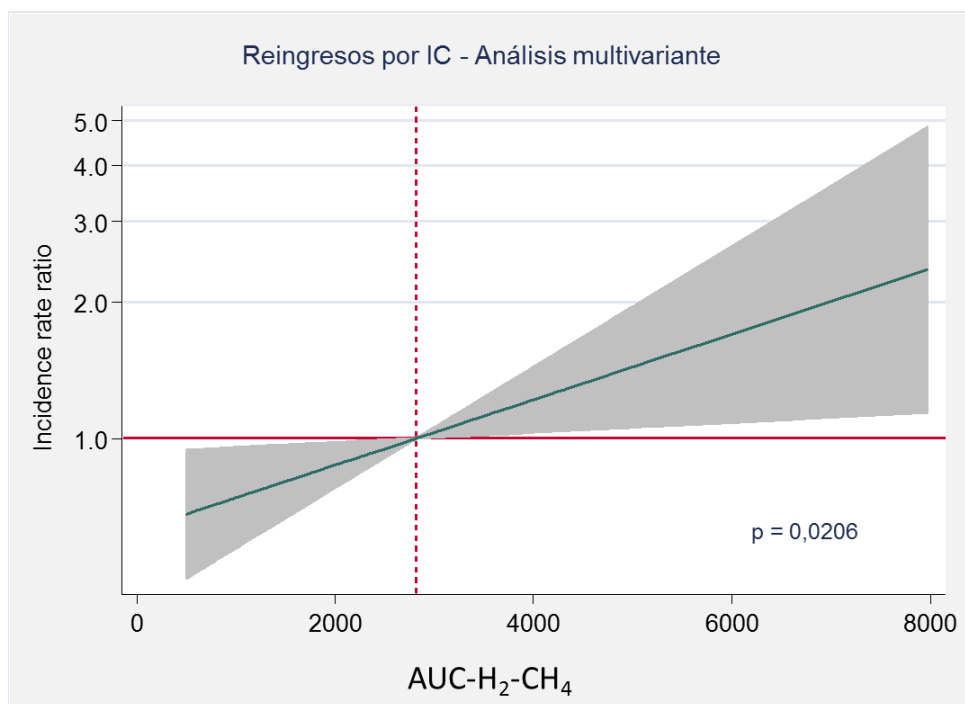


Figura 51: Análisis multivariante. AUC-H₂-CH₄ y riesgo de reingresos recurrentes por insuficiencia cardiaca aguda.

5.5. Parámetros predictores de AUC-H₂, AUC-CH₄ y AUC-H₂-CH₄

5.5.1. Predictores de AUC-H₂

5.5.1.1. Correlación de AUC-H₂ con parámetros inflamatorios

LogAUC-H₂ y algunos parámetros inflamatorios característicos en la IC guardaron una correlación estadísticamente significativa, pero por lo general débil con: IL-1 β ($r=0,21$; $p=0,032$), TNF- α ($r=0,23$; $p=0,018$) e IL-10 ($r=0,22$; $p=0,029$) (figuras 52, 53 y 54).

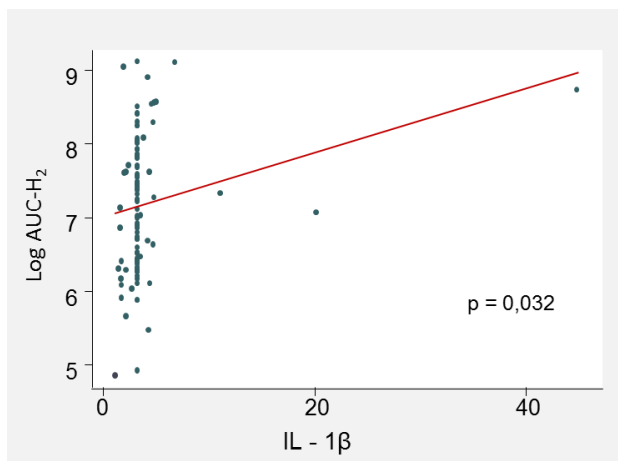


Figura 52: LogAUC-H₂ e interleuquina 1-beta.

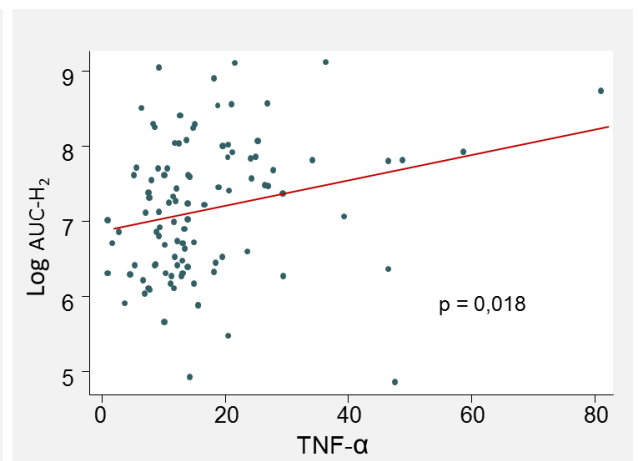


Figura 53: LogAUC-H₂ y el factor de necrosis tumoral- α .

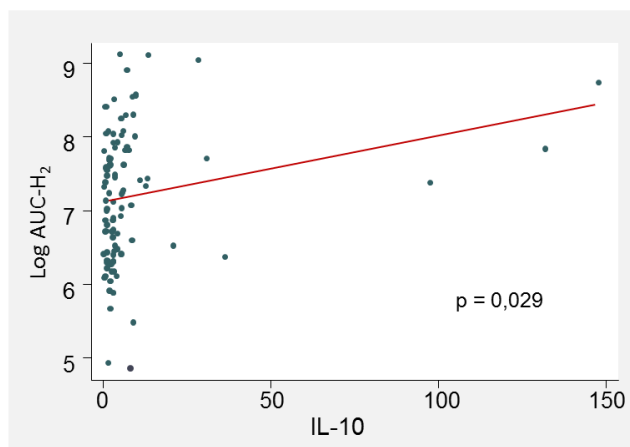


Figura 54: LogAUC-H₂ e interleuquina-10.

Sin embargo, el resto de parámetros inflamatorios estudiados no se correlacionaron de forma significativa con logAUC-H₂. La tabla que se muestra a continuación resume los resultados obtenidos (tabla 13).

Parámetros	Coficiente r	p
IL-6 (pg/mL)	0,083	0,404
Leucocitos absolutos (x 10 ⁹ L)	0,070	0,487
Neutrófilos absolutos (x 10 ⁹ L)	0,061	0,545
Linfocitos absolutos (x 10 ⁹ L)	-0,050	0,620
Recuento linfocitario (%)	-0,133	0,183
PCT (ng/mL)	0,057	0,568
PCR (mg/L)	0,025	0,806
ADE (%)	0,029	0,773

Tabla 13: Correlación entre AUC-H₂ y parámetros inflamatorios.

IL-6: Interleuquina-6, PCR: Proteína C-Reactiva, PCT: Procalcitonina, ADE: Ancho de distribución eritrocitario.

5.5.1.2. Correlación de AUC-H₂ con parámetros de severidad de la enfermedad

No se obtuvieron correlaciones independientes de logAUC-H₂ con los parámetros clínicos, ecocardiográficos y bioquímicos estudiados en la presente tesis doctoral. El listado de las correlaciones se muestra en la siguiente tabla 14:

Parámetros	Coefficiente r	p
Edad, años	-0,043	0,666
Presión arterial sistólica (mmHg)	0,056	0,575
Frecuencia cardiaca (latidos/minutos)	0,006	0,950
Índice de Charlson	0,013	0,899
Clase NYHA basal	0,182	0,06
FEVI (%)	0,167	0,094
TAPSE (mm)	-0,035	0,724
PAPS (mmHg)	0,142	0,197
TDE (ms)	-0,080	0,420
Hemoglobina (g/dL)	-0,048	0,920
CA125 (U/L)	0,131	0,189
NT-proBNP (pg/mL)	0,122	0,221
Urea (mg/dL)	0,133	0,184
Sodio (mmol/L)	-0,107	0,286
Potasio (mmol/L)	-0,099	0,323
Creatinina (mg/dL)	0,128	0,199
Filtrado glomerular estimado (MDRD) (%)	-0,141	0,156
Ácido Úrico (mg/dL)	0,001	0,988
Colesterol total (mg/dL)	-0,045	0,650
Triglicéridos (mg/dL)	-0,135	0,175
Colesterol LDL (mg/dL)	-0,079	0,434
Colesterol HDL (mg/dL)	0,143	0,156
GGT (U/L)	0,001	0,992
GOT (U/L)	0,005	0,960
GPT (U/L)	-0,046	0,646
Dosis de furosemida (mg)	0,115	0,251

Tabla 14: Correlación entre AUC-H₂ y parámetros de severidad de la insuficiencia cardiaca.

TAPSE: Desplazamiento sistólico del anillo tricúspide, FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo, PAPS: Presión arterial pulmonar sistólica, TDE: tiempo de deceleración de la Onda E, NT-proBNP: prohormona amino terminal del péptido natriurético cerebral, CA125: Antígeno carbohidrato 125, HDL: Lipoproteína de alta densidad, LDL: Lipoproteína de baja densidad, GGT: gamma-glutamil transpeptidasa, GOT: glutamato-oxalacetato transaminasa, GPT: Transaminasa glutámico-pirúvica.

5.5.2. Determinantes clínicos de AUC-H₂

En el análisis multivariante utilizando regresión múltiple robusta, los predictores independientes de logAUC-H₂ fueron la FEVI, la interacción edemas periféricos*dosis de diuréticos (valor de p para la interacción<0.001), la interacción ingreso reciente*edemas periféricos (valor de p para la interacción=0,017), el recuento linfocitario porcentual, el biomarcador TNF-alfa, y la presión arterial pulmonar evaluada mediante ecocardiograma. La magnitud de la asociación, dirección, forma funcional y significación estadística se presentan en las figuras a continuación. El R² del modelo fue de 0,27, lo que se traduce en las todas las variables de modelo predicen el 20% de la variabilidad de logAUC-H₂.

Como se puede observar, se objetivó una relación lineal e inversa entre logAUC-H₂ y FEVI (Figura 55).

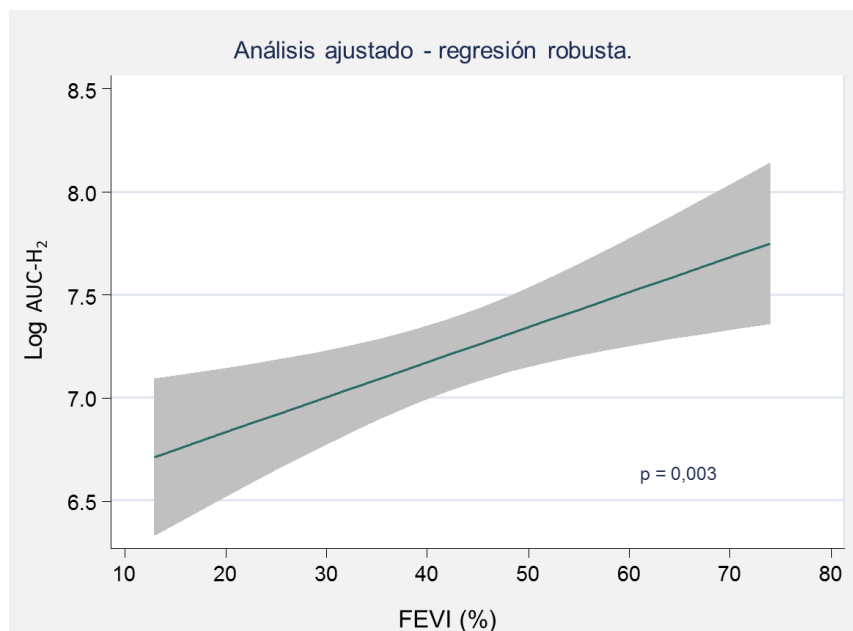


Figura 55: Análisis multivariante: LogAUC-H₂ con el método de regresión múltiple robusta y la fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

Por otro lado, se objetivó una relación independiente entre AUC-H2 y parámetros inflamatorios como el TNF- α y el recuento linfocitario porcentual. En concreto se observó una relación inversa y de carácter exponencial entre el recuento linfocitario y nuestra variable dependiente (mayores valores de AUC-H2 a recuentos inferiores) (Figura 56). Por otro lado, se objetivó una asociación positiva y de carácter no linear entre TNF-alfa y logAUC-H2 (Figura 57).

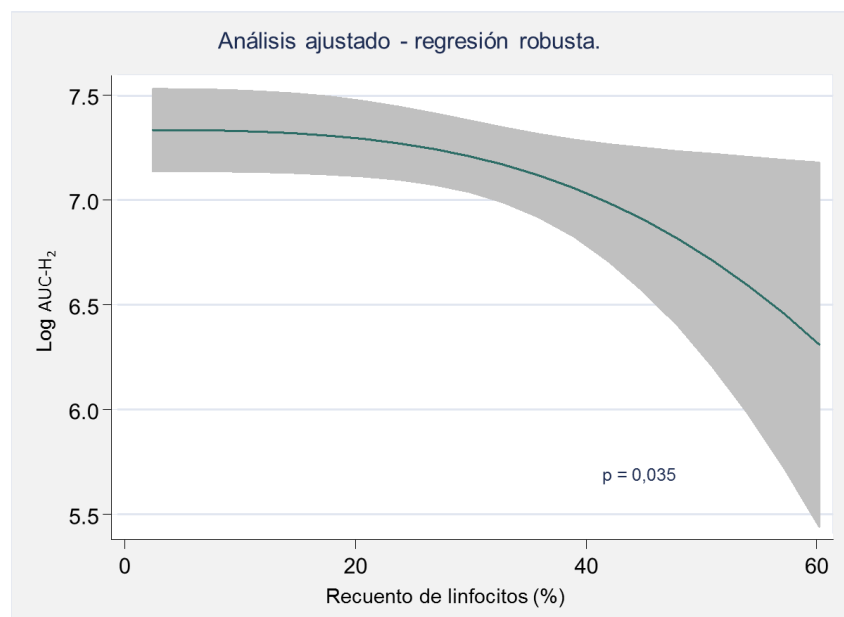


Figura 56: Análisis multivariante: LogAUC-H2 con el método de regresión múltiple robusta y el recuento linfocitario (%).

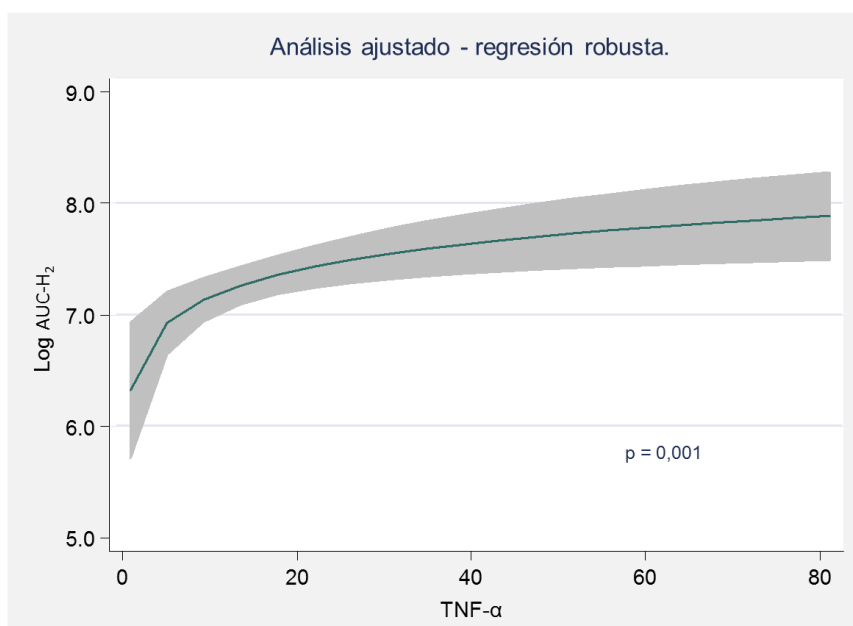


Figura 57: Análisis multivariante: LogAUC-H2 con el método de regresión múltiple robusta y el factor de necrosis tumoral- α .

Por último, variables relacionadas con mayor severidad clínica (descompensación reciente, presencia de signos clínicos de congestión periférica y elevadas dosis de diuréticos) se asociaron a mayores valores de logAUC-H₂. En concreto, dos interacciones significativas fueron halladas:

a) la primera, una descompensación reciente (<30 días) que se asoció a mayores valores de logAUC-H₂ cuando coexistía la presencia de edemas; por el contrario, dicha asociación fue no significativa en ausencia de edemas como se muestra en la tabla inferior.

	β	IC 95%	p
Descompensación reciente*edemas periféricos (valor de p para la interacción < 0.001)			
Descompensación reciente y no presencia de edemas periféricos	0,167	-0,401-0,736	0,564
Descompensación reciente en presencia de edemas periféricos	1,388	0,988-1,788	<0,001

Tabla 15: Relación entre logAUC-H₂ y variables clínicas. Interacción descompensación reciente*edemas periféricos

b) También se constató un comportamiento diferencial para predecir logAUC-H₂ entre dosis de diuréticos y presencia de edemas periféricos. En ausencia de edemas, dosis elevadas de diuréticos (≥ 120 mg de dosis equivalentes de furosemida/día) se asociaron inversamente al hidrogeno exhalado. Por el contrario, en presencia de edemas, dosis altas de diuréticos, presentaron un efecto neutro (Tabla 16).

	β	IC 95%	p
Dosis de diuréticos*edemas periféricos (valor de p para la interacción < 0,017)			
Dosis ≥ 120 mg de furosemida/día en ausencia de edemas periféricos	-0,935	-1,721- -0,147	0,020
Dosis ≥ 120 mg de furosemida/día en presencia de edemas periféricos	0,156	-0,342- -0,653	0,539

Tabla 16: Relación entre logAUC-H₂ con variables clínicas. Interacción dosis de furosemida/día*edemas periféricos.

5.5.3. Predictores de AUC-CH₄

5.5.3.1. Correlación de AUC-CH₄ con parámetros inflamatorios

LogAUC-CH₄ también se asoció de forma significativa pero débil con IL-1 β (r=0,24; p=0,018) (figura 58).

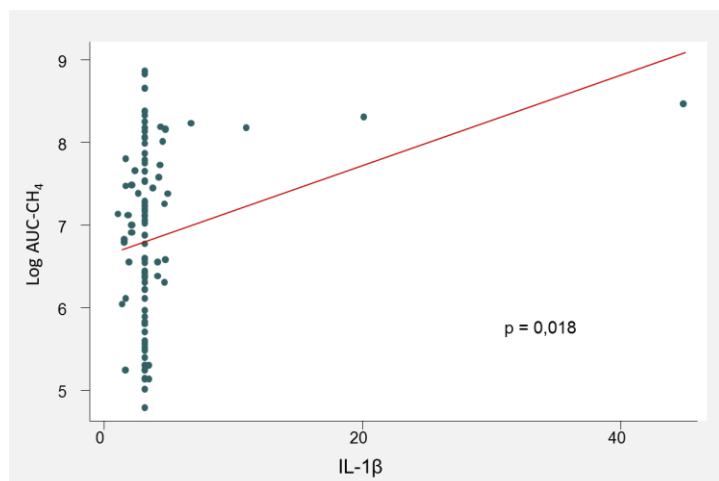


Figura 58: Correlación entre logAUC-CH₄ y la interleuquina-1beta.

No hubo asociación significativa con el resto de parámetros inflamatorios contemplados en este estudio (Tabla 17).

Parámetros	Coficiente r	p
IL-6 (pg/mL)	0,184	0,064
IL-10 (pg/mL)	0,088	0,380
TNF-α (pg/mL)	0,146	0,143
Leucocitos absolutos (x 10 ⁹ L)	0,060	0,548
Neutrófilos absolutos (x 10 ⁹ L)	0,069	0,489
Linfocitos absolutos (x 10 ⁹ L)	0,073	0,465
Recuento linfocitario (%)	0,026	0,798
PCR (mg/L)	0,001	0,995
PCT (ng/dL)	0,097	0,332
ADE (%)	-0,051	0,608

Tabla 17: Correlación entre AUC-CH₄ y parámetros inflamatorios.

PCR: Proteína C-Reactiva, PCT: Procalcitonina, IL-1β: Interleuquina-1β, IL-6: Interleuquina-6, IL-10: Interleuquina-10, TNF-α: Factor de necrosis tumoral-α, ADE: Ancho de distribución eritrocitario.

5.5.3.2. Relación entre AUC-CH₄ y los parámetros de severidad en la IC

En la siguiente tabla se muestran de forma resumida las correlaciones de logAUC-CH₄ con los parámetros de severidad más característicos en la IC.

Parámetros	Coefficiente r	p
Edad, años	0,036	0,723
Presión arterial sistólica(mmHg)	0,014	0,888
Frecuencia cardiaca (latidos/minutos)	-0,024	0,813
Índice de Charlson	0,148	0,137
Clase NYHA basal	0,089	0,376
FEVI (%)	0,069	0,491
TAPSE (mm)	-0,065	0,515
PAPS (mmHg)	-0,042	0,701
TDE (ms)	-0,051	0,608
Hemoglobina (g/dL)	0,159	0,111
CA125 (U/L)	0,085	0,336
NT-proBNP (pg/mL)	0,075	0,453
Urea (mg/dL)	0,089	0,375
Sodio (mmol/L)	-0,117	0,240
Potasio (mmol/L)	-0,105	0,293
Creatinina (mg/dL)	0,110	0,272
Filtrado glomerular estimado (MDRD) (%)	-0,038	0,702
Ácido Úrico (mg/dL)	-0,045	0,652
Colesterol total (mg/dL)	0,050	0,618
Triglicéridos (mg/dL)	-0,215	0,030
Colesterol LDL (mg/dL)	0,097	0,336
Colesterol HDL (mg/dL)	0,055	0,587
GGT (U/L)	-0,149	0,137
GOT (U/L)	-0,017	0,864
GPT (U/L)	-0,090	0,370
Dosis de furosemida (mg)	0,095	0,345

Tabla 18: Correlación entre AUC-CH₄ y parámetros de severidad de la enfermedad.

TAPSE: Desplazamiento sistólico del anillo tricúspide, FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo, PAPS: Presión arterial pulmonar sistólica, TDE: tiempo de deceleración de la Onda E, NT-proBNP: prohormona amino terminal del péptido natriurético cerebral, CA125: Antígeno carbohidrato 125, HDL: Lipoproteína de alta densidad, LDL: Lipoproteína de baja densidad, GGT: gamma-glutamil transpeptidasa, GOT: glutamato-oxalacetato transaminasa, GPT: Transaminasa glutámico-pirúvica.

5.5.4. Determinantes clínicos relacionados con el AUC-CH₄

En el análisis multivariante de regresión múltiple robusta los predictores independientes de logAUC-CH₄ fueron: Índice de Charlson, una descompensación reciente y la interacción edemas periféricos*dosis de diuréticos (valor de p para la interacción=0,018). La concentración en sangre de triglicéridos y la PAPS mostraron una correlación lineal y negativa con logAUC-CH₄.

La magnitud de la asociación, su dirección y significación estadísticas se presentan en la tabla 19:

	β	IC 95%	p
Triglicéridos (mg/dL)	-0,071	-0,012 – -0,002	0,011
Descompensación reciente	0,856	0,231 - 1,482	0,008
Interleuquina-1 beta (pg/mL)	0,042	0,016 - 0,068	0,002
PAPS (mmHg)	0,015	0,009 - 0,310	0,083
Índice de Charlson	0,137	-0,001 – 0,276	0,052
Furosemida dosis ≥ 120 mg/día en ausencia de edemas	-1,350	-2,651- -0,445	0,043
Furosemida dosis > 120 mg/día en presencia de edemas	0,120	-0,502- 0,526	0,963

Tabla 19: Análisis multivariante de AUC-CH₄ con el método de regresión múltiple robusta:

magnitud de asociación, dirección y significación estadística.

TAS: Tensión arterial sistólica, FC: Frecuencia cardiaca, PAPS: Presión arterial pulmonar sistólica.

El R² (coeficiente de determinación) fue de 22%, lo que se traduce en que todas las variables de modelo predicen el 22% de la variabilidad de AUC-CH₄.

DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

En las últimas décadas, las bases de la fisiopatología de la IC han sufrido importantes cambios. Se ha pasado de una visión predominantemente hemodinámica y cardiocéntrica a entenderse como un trastorno sistémico, neurohormonal e inflamatorio en el que se ven implicados numerosos sistemas y órganos, contribuyendo la afectación de estos últimos a la progresión clínica y empeoramiento de la enfermedad (8). El papel de ciertas comorbilidades tales como la disfunción renal (15), la anemia (100, 101), la ferropenia (102), la resistencia a la insulina (103), la sarcopenia (104), la disfunción hepática (58) y las alteraciones a nivel intestinal (9), entre otras, han ganado notable relevancia clínica en los últimos años.

En este sentido, existe cierta evidencia científica que apunta hacia la importancia de las interacciones cardio-intestinales en la fisiopatología de la IC (9, 58, 68, 87). En el presente trabajo reforzamos las anteriores premisas, sugiriendo que alteraciones de la flora intestinal podrían relacionarse con la gravedad y el pronóstico de la IC. En concreto, y a modo de resumen, en esta tesis doctoral observamos que:

- a) La prevalencia de SBID evaluado mediante el test del aliento, fue elevada. De acuerdo al criterio diagnóstico que ofrece mayor sensibilidad, hasta un 65,69% de los pacientes con IC obtuvieron un resultado positivo en el test de SBID.
- b) La concentración de H₂ y CH₄ en el test del aliento se relacionó con un aumento del riesgo de presentar episodios adversos durante el seguimiento a medio-largo plazo. Así, y en particular AUC-H₂ se asoció de forma independiente con el tiempo hasta presentar el episodio combinado de muerte y/o reingreso por cualquier causa y con el episodio

combinado más completo (muerte/reingreso/visitas a urgencias). Así mismo, se halló una relación lineal significativa e independiente entre AUC-H₂ y el riesgo de ingresos recurrentes, tanto por IC aguda como por todas las causas posibles.

- c) La concentración de H₂ y CH₄ en el aire espirado se asoció de manera positiva con parámetros relacionados con la gravedad de la enfermedad. Específicamente, logAUC-H₂ y log AUC-CH₄ se asociaron con el estado más avanzado (clínico y hemodinámico) de la enfermedad, una mayor actividad inflamatoria y signos clínicos de mayor sobrecarga hídrica.

De acuerdo con la revisión de la literatura, esta es la primera vez que se evalúa el significado clínico del SBID en pacientes con IC avanzada con resultados positivos y muy prometedores. En nuestra opinión, el presente estudio abre las puertas a futuros estudios que confirmen y profundicen en estos hallazgos y, más importante aún, estudien potenciales nuevas líneas de intervención terapéutica en la IC.

6.1. Disbiosis intestinal y enfermedad

La microbiota intestinal desempeña funciones fisiológicas muy importantes en el organismo, como la obtención de nutrientes a partir de los alimentos o el control local inmunitario, por nombrar algunas (105). Sin embargo, también es una potencial causa de enfermedad (105).

La composición de la microbiota intestinal no es constante y varía ampliamente entre individuos. Por ejemplo, la proporción de las principales familias bacterianas difiere en cada individuo dependiendo del genoma del huésped y de los factores ambientales (uso de antibióticos, hábitos de vida, higiene, dieta, etc) (75). Es

ampliamente conocido que alteraciones en la composición de la microbiota, llamada disbiosis, juegan un papel clave en la etiopatogenia de numerosos procesos nosológicos, además de en las ECV. En la tabla 20 se resumen los procesos nosológicos más característicos asociados al SBID (106).

DISBIOSIS Y ENFERMEDAD	
Relacionados con trastornos gastrointestinales	
-	Enfermedad de Crohn
-	Colitis ulcerosa
-	Síndrome del colon irritable
Relacionados con enfermedades metabólicas	
-	Diabetes
-	Obesidad
-	Metabolismo energético
Relacionados con afecciones alérgicas	
-	Eccema atópico
-	Asma atópico
-	Rinitis
-	Alergias alimentarias tipo I
Relacionados con el sistema nervioso central	
-	Ansiedad
-	Depresión
-	Disfunción cognitiva

Tabla 20: Disbiosis intestinal y trastornos fitopatológicos asociados.

6.1.1. Disbiosis y trastornos gastrointestinales

- Enfermedades inflamatorias intestinales: En este contexto, el uso de antibióticos consiguió reducir e incluso prevenir la inflamación del intestino (107). En otro trabajo, las alteraciones en la abundancia y diversidad de población microbiana del intestino, y más específicamente, una disminución de la proporción de *Firmicutes*, se asociaron a esta patología. Esta asociación resulta de particular interés ya que *Firmicutes* son conocidos productores de

ácidos grasos de cadena larga (SCFA), como el acetato y el butirato, con potentes propiedades antiinflamatorias (108).

- Síndrome del colon irritable (SCI): A partir de la asociación descrita entre el aumento de la proporción de la especie *Firmicutes* frente a *Bacteroidetes* (dos veces superior) y el desarrollo de síntomas en pacientes con el síndrome, se sugirió, que la alteración en la composición de la microbiota y la fermentación colónica alterada en pacientes con SCI podría desempeñar un papel importante en el desarrollo de síntomas en el SCI (109).

6.1.2. Disbiosis y enfermedades metabólicas

- Diabetes Mellitus: La diabetes mellitus tipo 2 es un trastorno complejo, en el que la genética y los factores ambientales son claros contribuyentes a su desarrollo. Recientes investigaciones han puesto de manifiesto que la composición de la microbiota intestinal también repercute en esta condición. La disbiosis funcional microbiana podría tener una relación directa con la fisiopatología de la diabetes tipo 2. En un estudio reciente, se analizó la microbiota intestinal de este perfil de pacientes, y como resultado, se concluyó que la presencia de la especie *Clostridiales* productora de butirato podría tener un efecto protector frente al desarrollo de diabetes. Estos investigadores aislaron una menor cantidad de la especie *Clostridiales* productora de butirato frente a una mayor proporción de la especie *Clostridiales* no productora de butirato, sugiriendo un posible efecto protector por parte del butirato en esta patología (110).

- Obesidad: Previamente, en estudios preclínicos, la composición de la flora intestinal de ratones obesos fue considerablemente diferente a la de los ratones delgados. En el grupo de ratones obesos, la proporción de *Bacteroidetes* fue un 50% menor acompañada de un aumento proporcional de la especie *Firmicutes* (111). En otro estudio más reciente que analizaba la composición microbiana de personas obesas y delgadas se obtuvieron resultados similares, las personas obesas presentaban un ratio mayor de la especie *Firmicutes* frente a *Bacteroidetes*, y curiosamente, este ratio se modificaba en concordancia con el peso (112).

6.1.3. Disbiosis relacionadas con afecciones alérgicas

- Eccema atópico: Las causas del eccema atópico son potencialmente numerosas y no completamente conocidas, aunque es sabido que sí están implicados por un lado, el método de nacimiento (es decir, vaginal vs cesárea), y por otro, la genética. En particular, en un estudio que contemplaba la composición bacteriana intestinal de bebés de un mes de edad con eccema atópico, se observó que, el grupo con la enfermedad presentaba una menor diversidad bacteriana en comparación con los bebés sin eccema atópico (113). También se observó menor cantidad de proteobacterias (cuyas paredes celulares contienen lipopolisacárido) en los lactantes con eccema atópico. Dado que los LPS activan la respuesta inmune, podría existir una asociación entre una baja exposición a los LPS con un mayor riesgo de presentar eccema atópico (114).

6.1.4. Disbiosis relacionadas con alteraciones del sistema nervioso central

Varios estudios apoyan la teoría de la influencia de la microbiota intestinal en la función cognitiva y el comportamiento mediante la reprogramación directa del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HHA), una vía que se activa en respuesta a la infección y se ve modificada por factores de estrés psicológicos (115, 116).

Los resultados expuestos en diferentes estudios en ratones muestran la existencia de una relación entre las infecciones entéricas y la ansiedad, la depresión y la disfunción cognitiva (115, 116). Además de estos datos preclínicos, se ha insinuado en investigaciones recientes que la permeabilidad intestinal y la subsecuente translocación de bacterias puede activar vías inmuno-inflamatorias y de estrés oxidativo que influirían en la fisiopatología de la depresión. Por ejemplo, la depresión crónica en seres humanos estuvo acompañada por una mayor respuesta inmunitaria dirigida contra el LPS de bacterias gram-negativas del intestino (117). Por otro lado, se plantearon estudios que analizaban la eficacia de los probióticos en la regulación del estado de ánimo y ansiedad en humanos, concluyendo que: a) los sujetos con las puntuaciones más bajas en las escalas de humor al inicio, mejoraban significativamente las puntuaciones del test después de tomar el probiótico en comparación con el grupo placebo (118), y que b) la combinación de *L. helveticus* y *B. longum* reducía la ansiedad y tenía efectos psicológicos beneficiosos al disminuir el cortisol sérico en voluntarios humanos sanos (119).

6.2. SBID

6.2.1. SBID y patología

El SBID es un síndrome heterogéneo producido por un número excesivo y/o alteración en el tipo de bacterias presentes en el intestino delgado (120). La etiología de SBID es compleja, se asocia con desórdenes de los mecanismos protectores antimicrobianos del organismo, anomalías anatómicas y/o desórdenes motores. “Etiología” y “predisposición” van ligadas en muchos casos, y en otros, se puede desarrollar SBID sin ninguna patología subyacente evidente, como en la población anciana (93). En la mayoría de los casos existe una relación bidireccional: la enfermedad subyacente se complica con SBID y SBID, directamente por un impacto morfológico o indirectamente por trastornos en la absorción de nutrientes, puede causar un deterioro ampliado en la enfermedad subyacente. Algunas de las patologías más representativas asociadas con SBID son las siguientes:

- Patologías pancreáticas: Un 30-40% de los pacientes con pancreatitis crónica desarrollan SBID. La fibrosis quística también se asocia con un aumento del riesgo de presentar SBID, 14 de 25 (56%) pacientes con fibrosis quística fueron diagnosticados de SBID. En los pacientes con cáncer pancreático avanzado, SBID fue propuesto como el factor causal principal de presentar diarrea en estos pacientes (76).
- Síndrome del colon irritable (SCI): La etiopatogenia de este síndrome todavía sigue siendo en cierta medida desconocida. Los síntomas asociados a SBID y los asociados a SCI se solapan en gran medida, un 30-85 % de los pacientes que cumplía con criterios de presentar SCI a su vez también padecían SBID (121-

123). Como ejemplo, Pimentel et al. (124), practicaron el test del aliento con lactulosa en 111 pacientes con SCI y el 84% de ellos mostraron resultados anormales. El tratamiento con neomicina, mejoró los síntomas del 35% de estos pacientes (124). Existen dos vertientes de conocimiento sobre cuál de estas patologías es la originaria y cuál la secundaria. La primera de ellas, la hipótesis bacteriana, defiende que en algunos pacientes, la aparición de SCI se debe a una gastroenteritis infecciosa previa (tras una perturbación disintérica). El análisis del genoma microbiano de la microbiota fecal en personas sanas y en pacientes con SCI mostró diferencias en la composición (125). Por otro lado, la hipótesis opuesta defiende que SCI es el desencadenante de trastornos de motilidad intestinal y del desarrollo de SBID (126). Existe un tercer grupo que defiende que se trata de dos enfermedades aisladas y un resultado positivo de SBID en el test del aliento con lactulosa implica ausencia de SCI (127). Por último, existen otros grupos que no consideran que SBID juegue ningún papel en el desarrollo de SCI (128).

- Celiaquía: un amplio rango de pacientes celíacos, del 9 al 35%, fueron diagnosticados de SBID. La prevalencia de SBID es alta, especialmente en pacientes que no responden a una dieta libre de gluten y/o también tienen intolerancia a la lactosa (129, 130).
- Enfermedad de Crohn: SBID es bastante frecuente en este perfil de pacientes (aproximadamente la prevalencia es de un 25%). Además, en algunos casos, las manifestaciones de SBID pueden asemejarse a un brote agudo de la enfermedad de Crohn (un aumento de los movimientos intestinales y un aumento en la pérdida de peso corporal). La resección ileocecal y/o las fístulas

entero-entéricas y enterocólicas son importantes factores de predisposición, los pacientes que fueron operados presentaron una mayor predisposición de presentar SBID (el 30% frente al 18 %) (131-134).

- Cirrosis hepática: La cirrosis hepática es un factor de riesgo independiente del desarrollo de SBID, se diagnosticó en un 50-60% de los pacientes estudiados (128, 135). La alteración de la motilidad intestinal, especialmente un enlentecimiento del tránsito intestinal, en pacientes con enfermedad hepática avanzada favorecería el desarrollo de SBID. El SBID se correlacionó con la severidad de enfermedades hepáticas y se instauró como factor de riesgo para la descompensación de la cirrosis hepática debido a su relación con el desarrollo de encefalopatía hepática y peritonitis bacteriana espontánea. Estos autores sugieren que el mecanismo patológico más probable sería la translocación bacteriana (136).
- Esteatohepatitis no alcohólica: En un estudio de 22 pacientes con esteatohepatitis no alcohólica, 11 fueron diagnosticados de SBID (50%). En el grupo control se recogieron 5/23 diagnósticos de SBID, el 22%. El tratamiento con ciprofloxacino mejoró el SBID, aumentó los valores medios de insulina y redujo la producción de alcohol endógeno en comparación con el grupo control, sugiriendo una relación con la actividad bacteriana intestinal (137).
- Fibromialgia: En un trabajo de Pimentel et al. (138), el 100% de los pacientes con fibromialgia a los que se practicó el test del aliento con lactulosa dieron resultados anormales de concentración H₂ en el aire espirado. Además, la presencia de SBID se asoció con el dolor somático.

- Enfermedad de Parkinson: Los pacientes con enfermedad de Parkinson se asocian a una alta prevalencia de sufrir una alteración del tracto gastrointestinal (celiaquía, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, SCI, infección por *Helicobacter pylori* y/o SBID). Más allá de esta relación, se ha sugerido en forma de hipótesis, que el tracto gastrointestinal podría ser el lugar de origen de esta enfermedad, a partir de una infección gástrica o intestinal persistente por *Helicobacter pylori*. SBID se asoció con un deterioro de las fluctuaciones motoras pudiendo también contribuir a la patogénesis de esta enfermedad (139).
- Otras patologías: La infección por *Helicobacter pylori* se asoció significativamente con la presencia de SBID. En pacientes con diabetes mellitus tipo 1, la prevalencia de SBID fue menor que en los sujetos sanos, probablemente por el efecto beneficioso de la terapia nutricional en estos pacientes. En cambio, SBID se asoció positivamente con un ratio alto de grasa visceral/grasa subcutánea, con la edad, con la diabetes mellitus tipo 2 y con el síndrome metabólico (140).

6.2.2. SBID: el test del aliento

La técnica “gold standard” para la estimación de SBID es el cultivo de aspirado yeyunal. Sin embargo, su utilización no está muy extendida debido a las importantes limitaciones que presenta: a) alto coste; b) naturaleza invasiva; c) heterogeneidad en la metodología (en la ubicación del dispositivo para la aspiración del líquido, cantidad del aspirado, técnica de entrega y cultivo de la muestra); d) alta posibilidad de contaminación; c) error de muestreo; d) falta de estandarización en la interpretación

de los resultados (10^3 UFC/mL vs. 10^5 UFC/mL); d) falta de la validación adecuada (pocos estudios en controles (77)); d) compromiso de tiempo; y d) necesidad de infraestructuras especiales (76, 80, 83, 85, 96).

Las pruebas del aliento, aunque presentan considerables inconvenientes, son la modalidad diagnóstica más extendida: son simples, no invasivas y ampliamente disponibles. Además, como ventaja adicional, cuando se utiliza la lactulosa como sustrato, es probable que se identifiquen bacterias de zonas distales del intestino delgado que no pueden ser identificadas mediante técnicas de cultivo (76, 80, 83, 85, 96).

En contraposición a la simplicidad del método, también existen importantes limitaciones que pueden llevar a interpretaciones erróneas (80, 83, 85, 86):

- Falsos negativos: a) absorción rápida de glucosa en el yeyuno proximal; b) el sobrecrecimiento de bacterias en el íleon terminal podría confundirse con un pico de gas tardío correspondiente a la llegada del sustrato al ciego; y c) baja densidad de bacterias anaerobias.
- Falsos positivos: cualquier trastorno que acelere el tránsito intestinal (el sustrato alcanza prematuramente al colon).
- En pruebas que miden metano, el estreñimiento puede ser un factor de confusión.
- Variabilidad: falta general de estandarización en la preparación, en el rendimiento y la interpretación de la prueba.

Variabilidad en la preparación a la prueba

En un intento de abordar esta cuestión, el grupo de Expertos de la Conferencia de Consenso de Roma publicó recomendaciones sobre la preparación de los pacientes y la realización de las pruebas del aliento de H₂ y CH₄ sin llegar a establecer unos criterios definitivos (79). En la Tabla 23 se puede encontrar un resumen modificado de sus recomendaciones.

PREPARACIÓN
<ul style="list-style-type: none">- Evitar el uso de antibióticos durante las 4 semanas previas- Evitar el uso de probióticos durante las 2-4 semanas previas- Evitar el uso de agentes procinéticos en 3 semividas de eliminación antes del test- Evitar el uso de purgantes colónicos en las 4 semanas previas- Consumir dieta libre de carbohidratos no absorbibles (pasta, pan, cereales de fibra, etc) la noche anterior a la prueba- Guardar ayuno durante al menos 6 horas- No fumar ni antes ni durante el test- Realizar enjuagues con solución de clorhexidina antes de ingerir el sustrato
REALIZACIÓN
<ul style="list-style-type: none">- Precisión contrastada del cromatógrafo de gases- La muestra de aliento debe obtenerse después de una inspiración máxima- Guardar 15 segundos de apnea previa a la espiración prolongada- Conservar las muestras a 20°C hasta su análisis

Tabla 21: Recomendaciones sobre la preparación y realización de los test del aliento para el diagnóstico de SBID.

Variabilidad en la metodología

En la literatura científica podemos encontrar una amplia variabilidad en cuanto a la elección del tipo de sustrato, cantidad de sustrato, volumen de disolución del sustrato y duración de la prueba. Probablemente, la elección del tipo de sustrato glucídico es el punto que ha generado mayor controversia (76, 80, 83, 85, 96). En el documento de consenso, el grupo de trabajo de expertos identificó 11 ensayos clínicos

de validación cruzada que compararon pruebas de aliento y pruebas de cultivo de aspiración yeyunal. La sensibilidad y especificidad medias fueron del 62,5% y 81,8% para la glucosa frente al 52,5% y 85,7% de la lactulosa, respectivamente (79). A partir de estos valores, se calculó el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo: fueron, respectivamente, del 80% y 65,5% para la glucosa y del 61,5% y 53,6% para la lactulosa. La precisión diagnóstica de la glucosa fue de 71,7 y del 55,1 para la lactulosa. Sobre la base de estos resultados, el grupo de trabajo de expertos concluyó que el test con glucosa es la modalidad más precisa (79).

En otro un estudio reciente que comparó el uso de lactulosa o glucosa en el test del aliento en 325 individuos, 175 con SCI y 150 controles, también se recomendó el uso de glucosa (141). SBID fue positivo en 60/175 (34,3%) pacientes cuando se utilizó lactulosa y en 11/175 (6,2%) pacientes cuando se utilizó glucosa como sustrato. En los controles, el test con lactulosa fue positivo para SBID en 45/150 (30%) sujetos y en 1/150 (0,66%) sujetos con el test de glucosa. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a un resultado positivo de SBID cuando se utilizó el test con lactulosa entre pacientes y controles; mientras que el uso de los test con glucosa ofreció diferencias significativamente mayores ($p < 0,01$) e resultados positivos en los pacientes en comparación con los controles (141).

Por tanto, según la literatura disponible y en base al principio en el que se fundan los tests del aliento, desde un punto de vista práctico, el test con glucosa favorece la especificidad sobre la sensibilidad y el test con lactulosa favorece la sensibilidad sobre la especificidad. Un resultado negativo del test con glucosa no puede excluir SBID en el intestino delgado distal. Por otra parte, debido a que la lactulosa ingerida no llega a absorberse, teóricamente debería de ser capaz de

detectar la fermentación bacteriana en cualquier parte de la longitud del intestino delgado. No obstante, en ausencia de SBID, si la lactulosa alcanza el colon antes de los 90 minutos, se metabolizaría pudiendo dar como resultado un falso positivo.

El objetivo de este estudio es conocer la prevalencia e implicaciones del SBID en los pacientes con IC avanzada, generalmente población anciana. Este perfil de población suele presentar enlentecimiento del tránsito intestinal, por lo que resultaría recomendable seleccionar un sustrato que se exponga al intestino delgado en su totalidad, como es el caso de la lactulosa, y no se absorbiese con avidez, como la glucosa.

Variabilidad en la interpretación de los resultados

La interpretación de los resultados, especialmente el criterio diagnóstico que aplica el uso del nivel basal de H₂, también ha sido tema de debate. Algunos autores proponen que el ascenso temprano de concentración de H₂ podría deberse no a SBID sino a: a) una mala higiene bucal; b) fermentación bacteriana de carbohidratos mal absorbidos en el estómago, en el intestino delgado o en el colon; y d) tabaco. Estos autores recomiendan reprogramar la prueba si el nivel basal de H₂ es elevado (cada grupo utiliza diferentes límites) (77, 83). No obstante, estos aspectos podrían evitarse siguiendo las recomendaciones de preparación de la prueba, por lo que en nuestra opinión, y en consonancia con la opinión de otros autores (76, 80, 92, 93, 96), este hecho no debería impedir la realización de la misma. Sin embargo, no podemos afirmar con absoluta seguridad que los pacientes siguieran las recomendaciones en su totalidad. En el momento de la realización de los tests, cuando nos encontramos con la presente situación, revaloramos cada caso por separado.

6.3. Interacciones cardio-intestinales en enfermedades cardiovasculares

El ecosistema microbiano es capaz de producir una amplia gama de compuestos biológicamente activos que, como las hormonas, pueden ser transportados por la circulación y alcanzar sitios distantes dentro del huésped, influyendo así en diferentes procesos biológicos esenciales. Este órgano endocrino es “flexible”, su producción dependerá de las exposiciones dietéticas y de la composición parcialmente dinámica del mismo. Durante los últimos años, la puesta en escena del papel activo de la microbiota a partir de su función endocrina en el desarrollo de aterosclerosis y de complicaciones asociadas con las enfermedades cardiovasculares ha generado gran expectación (142).

En un estudio de casos y controles, se aislaron en plasma metabolitos de origen bacteriano que se correlacionaban con el riesgo de presentar enfermedades cardiovasculares (143). Tres de ellos están relacionados con el metabolismo de la fosfatidilcolina mediado por la microbiota intestinal: colina, betaína y trimetilamina-N-óxido (TMAO). Estos metabolitos surgen de la actividad microbiana intestinal sobre los nutrientes de la dieta. Los alimentos ricos en colesterol y grasas también suelen ser ricos en lecitina, colina y carnitina. Tras ingerirlos, la microbiota intestinal puede utilizar estos nutrientes como fuente de carbono por la acción de la enzima Trimetilamina (TMA) liasa, ausente en mamíferos. Esta enzima rompe el enlace C-N de la estructura de estos nutrientes liberando TMA como producto de deshecho. Cuando TMA alcanza el hígado, se oxida rápidamente formando TMAO por la acción de las enzimas hepáticas flavin monooxigenasas (142).

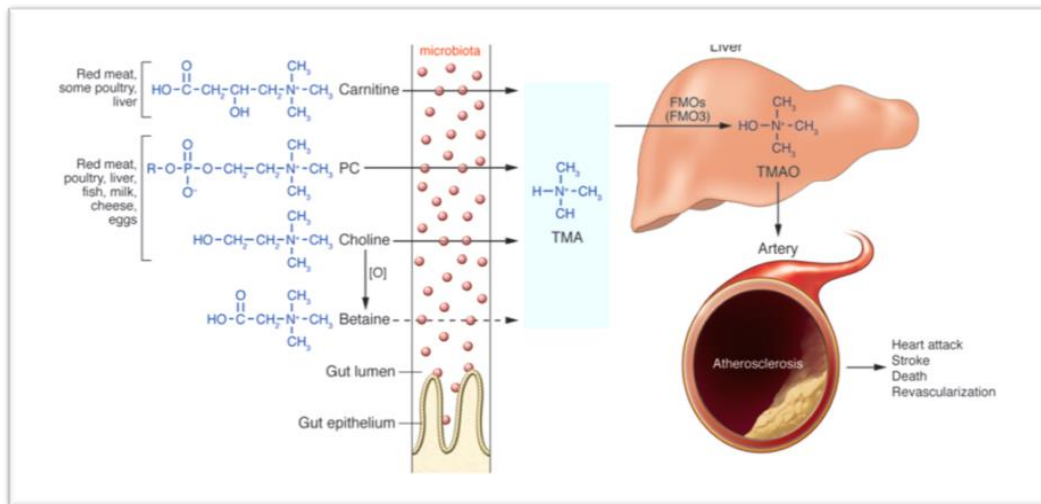


Figura 59: Síntesis de la trimetilamina-N-óxido. *Adaptado de Tang et al. (142).*

Este metabolito podría tener un potencial papel en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares a partir de su implicación en el transporte del colesterol, la actividad de los macrófagos, y posiblemente, sobre otros mecanismos aterogénicos (144). TMAO se ha relacionado positiva e independientemente con el mayor riesgo de infarto agudo de miocardio, accidente cerebrovascular, revascularización y muerte (142, 144). Así, TMAO, ha emergido como un marcador pronóstico relevante en la predicción de episodios cardiovasculares adversos a corto y largo plazo, más allá de los factores de riesgo y pruebas de laboratorio tradicionales, en el contexto del síndrome coronario agudo (145).

De nuevo, la disbiosis intestinal, vuelve a verse implicada en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares. Estos nuevos hallazgos han permitido dar un paso adelante en la “hipótesis del intestino y su relación con las enfermedades cardiovasculares”.

6.4. Interacciones cardio-intestinales en la IC

La primera evidencia sobre esta interacción surgió en los años 90, tras la detección de mayores concentraciones de moléculas pro-inflamatorias en pacientes

con IC (n=47) (receptor soluble CD14, receptores de TNF- α 1 y TNF- α 2, ICAM-1 y E-selectina) que en el grupo control de voluntarios sanos (n=17). Estos investigadores propusieron que el aumento de estos marcadores inflamatorios podría ser fruto de la interacción entre monocitos y/o macrófagos y la endotoxina bacteriana proveniente del intestino. Un aumento de la presión venosa mesentérica, como consecuencia al edema generalizado y/o la hipoperfusión tisular, podría desencadenar un aumento de la permeabilidad del intestino facilitando la translocación de bacterias u otros productos bacterianos (66).

En otro trabajo, años más tarde, se analizaron los biomarcadores bioquímicos de endotoxemia, inflamación y activación inmunitaria en pacientes con IC y edemas, en pacientes con IC sin edemas, y en un grupo de voluntarios sanos. Se observó que las concentraciones medias de endotoxina y citoquinas más elevadas se encontraban en los pacientes con IC y edemas periféricos. Tras tratar a este último grupo con terapia diurética a corto plazo, la concentración de endotoxina en sangre se redujo significativamente, pero los niveles de citoquinas permanecieron sin cambios (34), dando soporte a la anterior hipótesis.

Investigadores de este mismo grupo, posteriormente, con el fin de discernir el origen de este fenómeno, evaluaron la proporción de endotoxina, del receptor soluble CD14, de TNF- α e IL-6 a partir de muestras de sangre de una vena antecubital en pacientes ingresados por IC aguda (n=17), en pacientes de las mismas características con IC estable (n=21) y en un grupo de voluntarios sanos (n=9). Los resultados más altos de biomarcadores inflamatorios se obtuvieron en las muestras de sangre de pacientes con IC aguda. Se practicó a su vez un cateterismo cardiaco en los pacientes con IC aguda y se analizaron los mismos biomarcadores a partir de la muestra de

sangre obtenida en ese momento. La concentración de endotoxina resultó ser mayor en la vena porta que en el ventrículo izquierdo, hecho que sugirió que el origen de la elevada actividad inflamatoria en la IC no provenía principalmente del miocardio ni del parénquima pulmonar, sino que podría provenir del intestino (35).

A pesar de estos hallazgos prometedores sobre la implicación de la endotoxina en la IC, estos autores se tropezaron con importantes contradicciones: a) en algunos estudios no se encontraron diferencias significativas en la concentración de endotoxina en plasma entre pacientes con IC y sujetos libres de enfermedad (34); b) Von haehling et al. mostraron que la respuesta celular a LPS en pacientes con IC congestiva y grupos control es en cierto grado dependiente de la edad (36); c) Sharma et al. sugieren que la concentración de LPS es inversamente proporcional a los niveles de colesterol en suero, y que su actividad dependería también de estos niveles (146); d) la determinación del LPS depende en muchos casos de la presencia de proteínas de unión al LPS, valores que difieren en cada individuo, y por tanto, su valoración aislada no podría relacionarse con su bioactividad (68) y d) la translocación de bacterias o de endotoxinas ocurre también por vía linfática sin llegar a alcanzar el torrente sanguíneo, por lo que su detección en sangre o plasma no correspondería con su bioactividad (147). Debido a la baja rentabilidad clínica sumada a la evidencia insuficiente adscrita a la determinación de la endotoxina o LPS, comenzaron a evaluarse otras alternativas para identificar y/o cuantificar la importancia del tubo digestivo como factor etiológico de la activación inmunológica que se observa en la IC.

Sandek et al. (68), en 2007, reflejaron de nuevo concentraciones significativamente mayores de IL-6, TNF- α , leucocitos y de inmunoglobulina A-anti-LPS, en los pacientes con IC crónica en comparación con el grupo de sujetos sanos. Pero

además, en este trabajo, se estudió el índice de permeabilidad intestinal, el espesor de la pared intestinal (íleon terminal, colon ascendente, colon transverso, colon descendente y sigma) y la densidad de bacterias adheridas a la mucosa (biofilm), parámetros que también fueron significativamente mayores en los pacientes con IC crónica.

Investigadores de este mismo grupo, años más tarde, analizaron el flujo intestinal medido mediante ultrasonografía de alta resolución, en pacientes con IC crónica (n=65) y en sujetos sanos (n=25). En este estudio se expuso que: a) los pacientes con IC crónica manejan valores de flujo sanguíneo sistólicos y diastólicos menores a nivel intestinal en comparación con los sujetos sanos y que, además, esta reducción fue más notable en el subgrupo de pacientes categorizados como caquécticos; b) el grosor de la pared intestinal del grupo de pacientes fue mayor al del grupo control; c) los sujetos con IC manifestaron mayor número de síntomas intestinales; d) la concentración y proporción de bacterias anaerobias y aerobias en las heces fueron similares en pacientes y controles; e) por el contrario, se aisló una mayor proporción de la *E. rectale* (estrictamente anaeróbia) en el biofilm yuxtamucosa del colon sigmoide en los pacientes con IC que además se correlacionó con un menor flujo sistólico en el colon sigmoide; y f) por último, el deterioro del flujo sanguíneo intestinal se correlacionó con la gravedad de la IC y con el grosor de la pared intestinal (mayor) en los pacientes con IC crónica, sugiriendo la existencia de edema en la pared intestinal (70).

Los anteriores trabajos sugerían la participación activa del intestino en el proceso fisiopatológico de la IC. Su implicación, podía verse reflejada en el aumento del grosor de las paredes intestinales, la reducción del flujo intestinal, la mayor

proporción de bacterias en la biopelícula de la mucosa intestinal, el aumento de la permeabilidad, y la continua corriente de citoquinas circulantes en los pacientes con IC. En esta línea, Pasini et al. (71) se propusieron caracterizar el fenotipo de esta flora intestinal, además de evaluar la permeabilidad intestinal y sus correlaciones con la gravedad de la enfermedad, la congestión venosa y la inflamación en una cohorte de 60 pacientes con IC crónica (la mitad de ellos de clase NYHA I-II, y la otra mitad de clase NYHA III-IV) y 20 sujetos sanos. En comparación con el grupo control, se aislaron en la población de pacientes con IC cantidades masivas de especies bacterianas patógenas y *Candida* tales como *Campylobacter* ($85,3 \pm 3,7$ CFU/ml vs. $1,0 \pm 0,3$ CFU/ml; $p < 0.001$), *Shigella* ($38,9 \pm 12,3$ CFU/ml vs. $1,6 \pm 0,2$ CFU/ml; $p < 0.001$), *Salmonella* ($31,3 \pm 9,1$ CFU/ml vs 0 CFU/ml; $p < 0.001$), *Yersinia enterocolitica* ($22,9 \pm 6,3$ CFU/ml vs. 0 CFU/ml; $p < 0.0001$), y *Candida* ($21,3 \pm 1,6$ CFU/ml vs. $0,8 \pm 0,4$ CFU/ml; $p < 0.001$). La tasa de desarrollo de las especies más patógenas fue significativamente más elevada en los pacientes con enfermedad más severa (*Candida*, *Campylobacter* y *Shigella*). En cuanto a la permeabilidad intestinal, los resultados mostraron valores normales en los sujetos sanos, incrementándose hasta un 78,3% en la población de IC crónica. De nuevo, el grupo de pacientes con IC de peor clase funcional también presentó mayor permeabilidad asociada a inflamación, mayor PAD y peor progresión de la enfermedad (71).

En otro trabajo, el grupo de Valentova et al. estudió el efecto de la congestión intestinal y su relación con los estados más avanzados de la IC a partir de una cohorte de 165 pacientes. Según los criterios de diagnóstico actuales de caquexia de origen cardiaco, los pacientes se dividieron en dos grupos, pacientes caquéticos (n=29) y no

caquéticos (n=136). Los pacientes caquéticos fueron más propensos a tener una reducción de la función sistólica del ventrículo derecho (VD) (72 vs 24%) y un aumento de la PAD (78 frente a 14%). La media del grosor de la pared intestinal también fue significativamente diferente entre los grupos, de $1,8 \pm 0,2$ mm en los pacientes caquéticos y de $1,3 + 0,04$ mm en los pacientes no caquéticos. Se analizó a su vez el grosor de la pared según la función cardiaca. Los pacientes con disfunción del VD y PAD elevada presentaron un aumento del grosor de la pared intestinal ($1,7 + 0,7$ mm) y mayor contenido de agua en comparación con los pacientes con función VD reducida pero con PAD normal ($1,3 + 0,1$ mm) o función preservada del VD ($1,3 + 0,1$ mm). Esto resultados sugieren que una PAD elevada, debido a la disfunción sistólica del VD, genera un vínculo hemodinámico con el edema intestinal. El aumento del grosor de la pared intestinal se correlacionó además con el malestar abdominal, pérdida de apetito, plenitud postprandial y la inflamación. Por un lado, la relación entre la pérdida de apetito y la plenitud postprandial podría insinuar un efecto contributivo en la reducción de la ingesta de alimentos en la población general de IC acelerando el proceso caquético. Por otro lado, el efecto del paso del LPS bacteriano a la circulación general debido al estado edematoso de la pared intestinal y la consiguiente activación de citoquinas inflamatorias también agravaría el proceso. Además, esta situación no sería exclusiva de procesos agudos, sino que también podría darse en pacientes con IC crónica, así se observó en los pacientes caquéticos (88). Estos hallazgos contribuyen a la consolidación de la existencia de una interacción cardio-intestinal.

Por otro lado, el efecto perjudicial del componente bacteriano intestinal también podría explicarse, como se detalló anteriormente, a partir de metabolitos producidos por ciertas bacterias intestinales. Recientemente, en un trabajo que

analizaba la concentración de TMAO en este perfil de pacientes, se observó que los niveles en plasma de TMAO en pacientes con IC eran mayores que en el grupo control, sugiriendo una proporción de bacterias intestinales mayor, además, TMAO se asoció con un aumento de 3,4 veces del riesgo de mortalidad independiente de los parámetros renales (TMAO se elimina por vía renal) (148). En otro estudio, la colina, la betaína y TMAO se correlacionaron con NT-proBNP y con índices ecocardiográficos de función diastólica pero no con los de función sistólica (149). En un trabajo de Suzuki et al. (150), que incluyó 972 pacientes con IC aguda de diferente etiología, TMAO actuó como predictor independiente en el análisis univariante del compuesto de muerte y/o reingreso por IC. Sin embargo, cuando se incluyeron en el análisis multivariante factores de confusión como son los índices de función renal, se perdió la significación estadística, por verse fuertemente correlacionado con la urea y el FGE.

Por tanto, se podría considerar que el efecto dañino de TMAO podría no estar asociado únicamente al efecto aterogénico. El mecanismo por el cual la elevación en sangre de TMAO contribuye a la progresión de los pacientes con IC posiblemente sea multifactorial: aumento de bacterias intestinales, disbiosis, aumento de la ingesta de los precursores de estos metabolitos, factores ambientales o isquemia intestinal.

En consonancia con los anteriores hallazgos, los resultados expuestos en la presente tesis doctoral relacionan el contenido bacteriano del intestino con un riesgo aumentado de sufrir episodios adversos clínicos. En concreto, la concentración de H₂ en el test del aliento con lactulosa como marcador subrogado de mayor cantidad de bacterias en el intestino delgado, se asoció a una mayor severidad y riesgo de episodios adversos en nuestra población de estudio. Al evaluar el conjunto de todas las tomas de muestra de aire espirado de cada uno de los resultados del test del aliento,

AUC-H₂, se asoció de forma independiente con el riesgo de fallecer o ingresar por cualquier causa y con el tiempo hasta el episodio combinado de muerte, ingreso hospitalario y/o visitas al servicio de urgencias. Así mismo, se halló una relación lineal y significativa entre AUC-H₂ y el riesgo de ingresos recurrentes, tanto por IC aguda como por todas las causas posibles. Resulta interesante destacar que la mediana de la concentración de H₂ a cada tiempo evaluado fue mayor en los pacientes que experimentaron un desenlace desfavorable, diferencias que fueron significativas en la toma de aire basal. Lo mismo sucedió con la mediana de concentración de CH₄ en la primera muestra de aire espirado y la mortalidad, los valores basales fueron significativamente diferentes entre el grupo de pacientes que experimentó el episodio y el que no. No disponemos de abundante bibliografía sobre este aspecto, pero hemos logrado encontrar algunos trabajos en los que se observaron hallazgos interesantes relacionados con este particular punto: a) en un trabajo anterior que estudiaba las diferencias en los resultados del test del aliento con lactulosa en 123 controles sanos y 81 pacientes con SCI, se detectaron diferencias significativas entre la concentración de hidrógeno en la toma de aire basal del grupo control y la población de estudio, siendo significativamente mayor en los pacientes con SCI (151); b) resultados similares fueron descritos en un estudio muy anterior, el porcentaje de pacientes con niveles elevados H₂ en ayunas de sujetos con enfermedad celíaca no tratada (58,8%) fue significativamente mayor que en los demás grupos (152). Podríamos especular que aquellos con valores elevados de gases exhalados basalmente podrían representar un subgrupo de pacientes con elevada concentración de bacterias tal, que sin necesidad de administrar un sustrato glucémico, alcanzaran ya altos niveles detectables de H₂/CH₄.

Todo este conjunto de hallazgos, en consonancia con otros trabajos (68, 70, 88, 149, 153), sugiere un papel fisiopatológico de las alteraciones cualitativas y/o cuantitativas de la flora microbiana intestinal en el curso evolutivo de los pacientes con IC.

6.5. SBID y fisiopatología de la IC

La fisiopatología de la IC es compleja, multifactorial y en muchos aspectos aún desconocida. Históricamente, un gasto cardíaco insuficiente y la subsecuente activación de la respuesta neurohumoral constituían la base de este síndrome (8). De entre los múltiples mecanismos fisiopatológicos alternativos a los tradicionales en la IC, figura el papel del intestino, y concretamente, el papel de la flora microbiana como factor fisiopatológico emergente (9, 70, 88). En el presente trabajo que incluyó una serie de pacientes con IC establecida, observamos que el SBID es frecuente, se relaciona con parámetros de mayor severidad de la enfermedad (clase funcional más avanzada, descompensación por ICA reciente), mayor sobrecarga hídrica y mayor actividad inflamatoria.

Estudios previos en IC han sugerido, que tanto la estasis sanguínea como la isquemia parietal podrían favorecer el sobrecrecimiento de bacterias en el intestino y la translocación bacteriana y/o de endotoxinas, promoviendo la activación inmunoinflamatoria sistémica (68, 70, 71). Esta sucesión de acontecimientos, conocida como “hipótesis de la translocación bacteriana”, se ve respaldada por alteraciones morfológicas (edema parietal), aumento de la permeabilidad intestinal y el aumento de biomarcadores inflamatorios que se observan en pacientes con IC (68, 87).

Los resultados que se presentan en este trabajo contribuyen, en cierta medida, al afianzamiento de esta hipótesis. Así, y en consonancia con estudios previos que

correlacionan inflamación y congestión esplácnica como fenómenos relacionados con la disbiosis intestinal en la IC (68, 70, 71, 88), en el presente trabajo, las concentraciones de H₂ y CH₄ espirado se asociaron positiva y significativamente con parámetros inflamatorios y de congestión. De manera interesante, importantes factores de riesgo como la edad, función renal, hemoglobina, presión arterial y frecuencia cardiaca no se asociaron con las concentraciones de H₂ ni de CH₄ exhalado, hecho que afianza a la congestión esplácnica como fenómeno hemodinámico principal en la patogenia de SBID en población no seleccionada con IC. Al mismo tiempo, es de destacar la asociación intensa entre valores más elevados de ambos gases y marcadores inflamatorios, lo que sugiere que el SBID podría jugar un papel causal en la patogenia de la elevada actividad inflamatoria en la IC. Cabe resaltar la relación inversa hallada entre el recuento linfocitario porcentual y las concentración de H₂ espirado, hecho que podría servir para estimar, de una manera simple y accesible, el grado de inflamación generada a nivel intestinal, y en cierto modo, explicar por qué un recuento linfocitario disminuido se asocia intensamente a un peor pronóstico en pacientes con IC (25). Por otro lado, pero en este mismo sentido, es importante remarcar que ni el SBID, ni los niveles de H₂ y CH₄, se asociaron con los niveles de PCT ni de otros biomarcadores inflamatorios como PCR. Este hecho podría sugerir que el SBID estaría jugando un papel predisponente pero no indispensable para la activación de la respuesta inmunológica secundaria a la translocación bacteriana o de toxinas. De esta manera, se necesitaría un “ambiente local” (edema, isquemia intestinal) (9, 34, 70, 88) y un estado de relativa inmunosupresión para que el SBID pudiese jugar un papel causal.

Por otro lado, resulta importante advertir la implicación de la FEVI conservada como predictor independiente de logAUC-H₂. Valentova et al. observaron que los pacientes con IC avanzada y peor situación clínica, también fueron aquellos en los que se identificó una reducción de la función sistólica del VD, y no del ventrículo izquierdo. Estos investigadores propusieron que la PAD, por disfunción del VD, se encuentra estrechamente relacionada con el edema de la pared del intestino (88). De esta manera, la presencia de valores más elevados de AUC-H₂ observados en FEVI conservada podría explicarse por mayor disfunción derecha en estos últimos, como resaltan recientes publicaciones (154).

Asimismo, es interesante subrayar la relación entre una mayor concentración de CH₄ espirado y concentraciones más bajas de triglicéridos. Como ya se ha mencionado anteriormente, un sobrecrecimiento de bacterias repercute negativamente en la actividad enzimática, metabólica y de absorción en el intestino, y con ello, en la absorción de lípidos y vitaminas liposolubles (80). Así lo reflejaron también un grupo de investigadores, el aumento del grosor de la pared intestinal en pacientes con IC avanzada se correlacionó con el malestar abdominal, pérdida de apetito, plenitud postprandial, e inflamación (88). Por otro lado, existe cierta evidencia acerca de la relación entre las concentraciones más bajas de colesterol sérico (como sustituto de la totalidad de las lipoproteínas) y la supervivencia mermada en pacientes con IC crónica (155). Esta teoría reside en la capacidad del colesterol y triglicéridos, ricos en lipoproteínas, de unirse al LPS bacteriano y bloquear su efecto. Estos autores proponen que las lipoproteínas actúan como tampón biológico y podrían bloquear la activación de vías sistémicas inflamatorias al reducir el efecto del LPS. Al mismo tiempo, la activación inmunológica inflamatoria podría a su vez actuar como un

mecanismo de retroalimentación negativa y disminuir aún más las lipoproteínas séricas (155). La relación inversa encontrada entre niveles de triglicéridos y concentración de CH₄ espirado es congruente con los anteriores postulados.

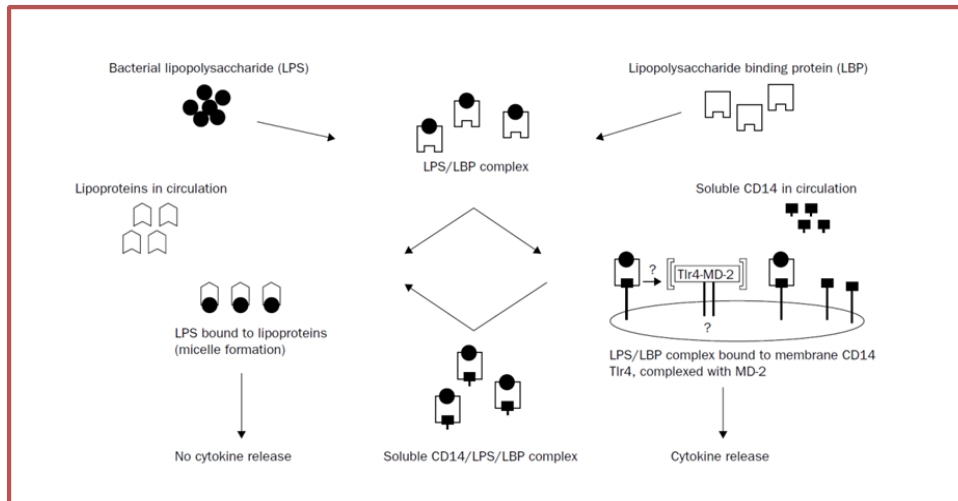


Figura 60: Interacción de la endotoxina con las lipoproteínas séricas.

Adaptado de Rauchhaus et al.(155)

A diferencia de otros estudios, la mayor edad y el sexo femenino se asociaron con mayor SBID (93). En nuestra población no se apreció esta asociación, hecho que podría explicarse por la elevada edad y prevalencia del sexo masculino predominantemente (71,6%) a diferencia de los estudios anteriormente referidos.

Sin embargo, y a modo general, hay que reconocer que tanto el modelo predictivo de H₂ como el de CH₄ presentaron una escasa capacidad para explicar la variabilidad de ambos parámetros en el presente estudio (el coeficiente de determinación (R² de ambos modelos fue de 27 e 22, respectivamente), por lo que es importante advertir que desconocemos cuales son los principales determinantes del SBID en IC avanzada. Probablemente existan factores genéticos, farmacológicos y

ambientales (dieta) que no han sido evaluados en el presente trabajo y que jueguen un papel clave en determinar la presencia o no de SBID. Sumado todo ello a las limitaciones diagnósticas de la técnica utilizada (el test del aliento) expuestas con anterioridad.

6.6. Implicaciones clínicas

Es ampliamente reconocida la elevada morbilidad y mortalidad asociada a la IC (1). En consecuencia, existe un considerable interés en la identificación de nuevos procesos fisiopatológicos implicados para así mejorar la estratificación de riesgo, y más importante aún, evaluar nuevas dianas terapéuticas. Dentro del amplio rango de comorbilidades presentes en la IC, resultados como los aquí presentados avalan la existencia de un síndrome cardio-intestinal (58).

Los presentes hallazgos, nos permiten apoyar esta hipótesis sugiriendo que la estimación del SBID mediante un test no invasivo como el test del aliento podría mejorar la estratificación a nivel pronóstico, y más importante aún, poder identificar un subgrupo de población que se pueda beneficiar de tratamientos específicos de descontaminación intestinal, modificación de la flora intestinal, modulación de la respuesta inmunológica o incluso, un tratamiento depletivo más intenso.

La relevancia clínica de este trabajo reside en dos aspectos fundamentales:

- a) Hasta el momento, el sobrecrecimiento de bacterias a nivel intestinal solo se había estimado a través métodos invasivos (68, 70, 88) o por mediciones indirectas, como la determinación de endotoxinas bacterianas o citoquinas proinflamatorias en la circulación (34, 68, 146, 156). Así pues, la técnica del test del aliento utilizada en el presente estudio abre las puertas para la estimación y evaluación de manera más sencilla, accesible y segura (test no

invasivo) de la participación de la flora bacteriana intestinal en la progresión clínica de los pacientes con IC.

- b) La intensa asociación entre el SBID evaluado mediante esta técnica y el riesgo de episodios adversos, fundamentalmente reingresos, abre las puertas a un mejor entendimiento de la fisiopatología de las descompensaciones de la IC y una mejora en la predicción de estos últimos. Es bien sabido que la sobrecarga hídrica es el fenómeno fisiopatológico predominante en las descompensaciones de la IC. A la vista de nuestros resultados, el SBID, como factor predispuesto por la congestión hídrica intestinal, podría ser otro fenómeno a considerar como causa de descompensación.

6.7. Direcciones futuras

A la vista de estos prometedores resultados, es indudable que son necesarios nuevos estudios que: a) confirmen nuestros resultados en series más amplias y en escenarios más controlados y además, delimiten la prevalencia de SBID en esta población; b) definan métodos de determinación óptimos para el diagnóstico de SBID en estos pacientes; c) evalúen la variabilidad y fiabilidad del test del aliento en poblaciones más homogéneas desde el punto de vista cardíaco; d) evalúen el comportamiento evolutivo (cambios en el tiempo) de los parámetros aquí estudiados; e) identifiquen los factores de riesgo asociados al desarrollo de SBID como condición patogénica en la IC y evalúen el SBID en IC como potencial diana terapéutica y su repercusión sobre el curso clínico de la enfermedad.

6.8. Limitaciones

Las principales limitaciones de la presente tesis son:

- a) Las propias de un estudio observacional de un solo centro en el que existen numerosos factores de confusión y sesgos que pudieran estar operando.
- b) Escaso tamaño de la muestra: cabe destacar que la muestra total fue pequeña ($n=102$), lo que afecta sensiblemente a la potencia de los resultados.
- c) Test del aliento: una limitación importante radica en el test utilizado para la estimación del SBID. El test del aliento es una técnica no estandarizada con gran variabilidad en la sensibilidad y especificidad (86). Gran parte de esta variabilidad deriva de una falta general en la estandarización de la preparación de la prueba, el rendimiento de la prueba y la interpretación de los resultados. Además, la falta de uniformidad en las definiciones y puntos de corte plantea situaciones difíciles de interpretar.
- d) Los resultados del test de lactulosa se pueden haber influenciado por variables que no fueron rigurosamente contempladas en este trabajo como la toma de antiseoretos, la patología digestiva concomitante y el tipo de dieta habitualmente consumida.
- e) El análisis por cromatografía de gases de la concentración de H_2 , CH_4 y el CO_2 en el aire espirado necesita equipos especiales de delicada tecnología, por lo que debe llevarse a cabo en centros especializados.
- f) La falta de determinaciones seriadas en el tiempo impide extraer información sobre el posible componente dinámico del SBID en pacientes con IC y su posible uso para la monitorización.

g) Por último, con los datos aquí disponibles, resulta difícil extraer conclusiones que apunten a una relación causa-efecto entre SBID y progresión de la IC. Las asociaciones observadas podrían resultar solamente ser un epifenómeno relacionado con mayor severidad de la enfermedad.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. En la IC, la prevalencia de SBID evaluado mediante el test del aliento es elevada, hasta un 65,69% de los pacientes con IC evaluados en la presente tesis doctoral obtuvieron un resultado positivo en el test de SBID.
2. La concentración de H₂ en el test del aliento se relacionó con un aumento del riesgo de presentar episodios adversos durante un seguimiento a medio-largo plazo, AUC-H₂ se asoció de forma independiente con el tiempo hasta presentar el episodio combinado de muerte y/o reingreso por cualquier causa y con el episodio combinado de muerte, reingreso y visitas a urgencias.
3. AUC-H₂ también se relacionó con el riesgo de presentar ingresos recurrentes, tanto por IC aguda como por cualquier causa, se halló una relación lineal significativa e independiente.
4. La concentración de CH₄ no se asoció significativamente con mayor riesgo de episodios adversos clínicos durante el seguimiento.
5. Las concentraciones de H₂ y CH₄, AUC-H₂ y AUC-CH₄ se asociaron de manera positiva con parámetros relacionados con la severidad de la enfermedad, específicamente, con una mayor actividad inflamatoria y signos clínicos de mayor sobrecarga hídrica.

BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Authors/Task Force Members, Document Reviewers. 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail.* 2016.

2. Sicras Mainar A, Navarro Artieda R, et al. Economic impact of heart failure according to the effects of kidney failure. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2015;68(1):39-46.

3. Cosin-Aguilar J. Economic and cost-benefit analysis of cardiology treatments. Approach in heart failure. *Rev Esp Cardiol.* 2001;54(2):136-138.

4. Ambrosy AP, Fonarow GC, Butler J, et al. The global health and economic burden of hospitalizations for heart failure: Lessons learned from hospitalized heart failure registries. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(12):1123-1133.

5. Segovia J. Cardiac failure figures an opportunity to improve. *Rev Clin Esp (Barc).* 2013;213(1):25-27.

6. Stewart S, MacIntyre K, Capewell S, et al. Heart failure and the aging population: An increasing burden in the 21st century? *Heart.* 2003;89(1):49-53.

7. Anguita M, Crespo MG, de Teresa-Galvan E, et al. Prevalence of heart failure in the Spanish general population aged over 45 years. The PRICE study. *Rev Esp Cardiol.* 2008;61(10):1041-1049.

8. Fauci A, Braunwald E, Kasper D, et al. *Harrison's principles of internal medicine.* 17th ed; 2008.

9. Verbrugge FH, Dupont M, Steels P, et al. Abdominal contributions to cardiorenal dysfunction in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(6):485-495.
10. Sanchez-Marteles M, Rubio J, Gimenez I. Pathophysiology of acute heart failure: A world to know. *Rev Clin Esp.* 2016;216(1):38-46.
11. Nunez J, Sanchis J, Bodi V, et al. Improvement in risk stratification with the combination of the tumour marker antigen carbohydrate 125 and brain natriuretic peptide in patients with acute heart failure. *Eur Heart J.* 2010;31(14):1752-1763.
12. Nunez J, Minana G, Nunez E, et al. Clinical utility of antigen carbohydrate 125 in heart failure. *Heart Fail Rev.* 2014;19(5):575-584.
13. Nunez J, Nunez E, Consuegra L, et al. Carbohydrate antigen 125: An emerging prognostic risk factor in acute heart failure? *Heart.* 2007;93(6):716-721.
14. Ronco C, Cicoira M, McCullough PA. Cardiorenal syndrome type 1: Pathophysiological crosstalk leading to combined heart and kidney dysfunction in the setting of acutely decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(12):1031-1042.
15. Nunez J, Minana G, Santas E, et al. Cardiorenal syndrome in acute heart failure: Revisiting paradigms. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2015;68(5):426-435.
16. Jaski BE. *The 4 stages of heart failure.* Cardiotext Publishing, LLC; 2015.
17. von Haehling S, Schefold JC, Lainscak M, et al. Inflammatory biomarkers in heart failure revisited: Much more than innocent bystanders. *Heart Fail Clin.* 2009;5(4):549-560.

18. Park M, Kulkarni A, Beatty A, et al. Soluble endothelial cell selective adhesion molecule and cardiovascular outcomes in patients with stable coronary disease: A report from the heart and soul study. *Atherosclerosis*. 2015;243(2):546-552.
19. Tsutamoto T, Hisanaga T, Fukai D, et al. Prognostic value of plasma soluble intercellular adhesion molecule-1 and endothelin-1 concentration in patients with chronic congestive heart failure. *Am J Cardiol*. 1995;76(11):803-808.
20. Yin WH, Chen JW, Jen HL, et al. The prognostic value of circulating soluble cell adhesion molecules in patients with chronic congestive heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2003;5(4):507-516.
21. Kozdag G, Ertas G, Kilic T, et al. Elevated level of high-sensitivity C-reactive protein is important in determining prognosis in chronic heart failure. *Med Sci Monit*. 2010;16(3):CR156-161.
22. Alonso-Martinez JL, Llorente-Diez B, Echegaray-Agara M, et al. C-reactive protein as a predictor of improvement and readmission in heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2002;4(3):331-336.
23. Levy WC, Mozaffarian D, Linker DT, et al. The seattle heart failure model: Prediction of survival in heart failure. *Circulation*. 2006;113(11):1424-1433.
24. Rudiger A, Burckhardt OA, Harpes P, et al. The relative lymphocyte count on hospital admission is a risk factor for long-term mortality in patients with acute heart failure. *Am J Emerg Med*. 2006;24(4):451-454.
25. Nunez J, Nunez E, Minana G, et al. Effectiveness of the relative lymphocyte count to predict one-year mortality in patients with acute heart failure. *Am J Cardiol*. 2011;107(7):1034-1039.

26. Daniels LB, Bayes-Genis A. Using ST2 in cardiovascular patients: A review. *Future Cardiol.* 2014;10(4):525-539.

27. Bayes-Genis A, de Antonio M, Vila J, et al. Head-to-head comparison of 2 myocardial fibrosis biomarkers for long-term heart failure risk stratification: ST2 versus galectin-3. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(2):158-166.

28. Gaggin HK, Szymonifka J, Bhardwaj A, et al. Head-to-head comparison of serial soluble ST2, growth differentiation factor-15, and highly-sensitive troponin T measurements in patients with chronic heart failure. *JACC Heart Fail.* 2014;2(1):65-72.

29. Januzzi JL, Jr, Peacock WF, Maisel AS, et al. Measurement of the interleukin family member ST2 in patients with acute dyspnea: Results from the PRIDE (pro-brain natriuretic peptide investigation of dyspnea in the emergency department) study. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50(7):607-613.

30. Bayes-Genis A, Nunez J, Nunez E, et al. Multi-biomarker profiling and recurrent hospitalizations in heart failure. *Front Cardiovasc Med.* 2016;3:37.

31. Bayes-Genis A, Zhang Y, Ky B. ST2 and patient prognosis in chronic heart failure. *Am J Cardiol.* 2015;115(7 Suppl):64B-9B.

32. Llibre C, Zamora E, Caballero A, et al. The real-life value of ST2 monitoring during heart failure decompensation: Impact on long-term readmission and mortality. *Biomarkers.* 2016;21(3):225-232.

33. Rehman SU, Mueller T, Januzzi JL. Characteristics of the novel interleukin family biomarker ST2 in patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52(18):1458-1465.

34. Niebauer J, Volk HD, Kemp M, et al. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: A prospective cohort study. *Lancet.* 1999;353(9167):1838-1842.

35. Peschel T, Schonauer M, Thiele H, et al. Invasive assessment of bacterial endotoxin and inflammatory cytokines in patients with acute heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2003;5(5):609-614.
36. von Haehling S, Genth-Zotz S, Sharma R, et al. The relationship between age and production of tumour necrosis factor-alpha in healthy volunteers and patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol.* 2003;90(2-3):197-204.
37. Andreassen AS, Krabbe KS, Krogh-Madsen R, et al. Human endotoxemia as a model of systemic inflammation. *Curr Med Chem.* 2008;15(17):1697-1705.
38. Maisel AS, Choudhary R. Biomarkers in acute heart failure--state of the art. *Nat Rev Cardiol.* 2012;9(8):478-490.
39. Hartupee J, Mann DL. Positioning of inflammatory biomarkers in the heart failure landscape. *J Cardiovasc Transl Res.* 2013;6(4):485-492.
40. Erikstrup C, Ullum H, Pedersen BK. Short-term simvastatin treatment has no effect on plasma cytokine response in a human in vivo model of low-grade inflammation. *Clin Exp Immunol.* 2006;144(1):94-100.
41. Becker KL, Nylen ES, White JC, et al. Clinical review 167: Procalcitonin and the calcitonin gene family of peptides in inflammation, infection, and sepsis: A journey from calcitonin back to its precursors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(4):1512-1525.
42. Meisner M. Update on procalcitonin measurements. *Ann Lab Med.* 2014;34(4):263-273.
43. Demissei BG, Cleland JG, O'Connor CM, et al. Procalcitonin-based indication of bacterial infection identifies high risk acute heart failure patients. *Int J Cardiol.* 2016;204:164-171.

44. Andriolo BN, Andriolo RB, Salomao R, et al. Effectiveness and safety of procalcitonin evaluation for reducing mortality in adults with sepsis, severe sepsis or septic shock. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;1:CD010959.

45. Becker KL, Snider R, Nylén ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: Clinical utility and limitations. *Crit Care Med.* 2008;36(3):941-952.

46. Maisel A, Neath SX, Landsberg J, et al. Use of procalcitonin for the diagnosis of pneumonia in patients presenting with a chief complaint of dyspnoea: Results from the BACH (biomarkers in acute heart failure) trial. *Eur J Heart Fail.* 2012;14(3):278-286.

47. Villanueva MP, Mollar A, Palau P, et al. Procalcitonin and long-term prognosis after an admission for acute heart failure. *Eur J Intern Med.* 2015;26(1):42-48.

48. Picariello C, Lazzeri C, Valente S, et al. Procalcitonin in acute cardiac patients. *Intern Emerg Med.* 2011;6(3):245-252.

49. Mollar A, Villanueva MP, Carratala A, et al. Determinants of procalcitonin concentration in acute heart failure. *Int J Cardiol.* 2014;177(2):532-534.

50. Dunlay SM, Weston SA, Redfield MM, et al. Tumor necrosis factor- α and mortality in heart failure: A community study. *Circulation.* 2008;118(6):625-631.

51. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, et al. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: A report from the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol.* 1996;27(5):1201-1206.

52. Rauchhaus M, Doehner W, Francis DP, et al. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 2000;102(25):3060-3067.

53. Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, et al. High levels of plasma brain natriuretic peptide and interleukin-6 after optimized treatment for heart failure are independent risk factors for morbidity and mortality in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36(5):1587-1593.

54. Long CS. The role of interleukin-1 in the failing heart. *Heart Fail Rev.* 2001;6(2):81-94.

55. Mann DL, McMurray JJ, Packer M, et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: Results of the randomized etanercept worldwide evaluation (RENEWAL). *Circulation.* 2004;109(13):1594-1602.

56. Anker SD, Coats AJ. How to RECOVER from RENAISSANCE? the significance of the results of RECOVER, RENAISSANCE, RENEWAL and ATTACH. *Int J Cardiol.* 2002;86(2-3):123-130.

57. Anker SD, von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: An overview. *Heart.* 2004;90(4):464-470.

58. Sundaram V, Fang JC. Gastrointestinal and liver issues in heart failure. *Circulation.* 2016;133(17):1696-1703.

59. Montoro MA SM. Problemas comunes en la práctica clínica. gastroenterología y hepatología. ; 2006.

60. Gelman S. Venous function and central venous pressure: A physiologic story. *Anesthesiology.* 2008;108(4):735-748.

61. Krack A, Sharma R, Figulla HR, et al. The importance of the gastrointestinal system in the pathogenesis of heart failure. *Eur Heart J.* 2005;26(22):2368-2374.

62. Ding J, Magnotti LJ, Huang Q, Xu DZ, et al. Hypoxia combined with escherichia coli produces irreversible gut mucosal injury characterized by increased intestinal cytokine production and DNA degradation. *Shock*. 2001;16(3):189-195.

63. Sandek A, Bjarnason I, Volk HD, et al. Studies on bacterial endotoxin and intestinal absorption function in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol*. 2012;157(1):80-85.

64. Krack A, Richartz BM, Gastmann A, et al. Studies on intragastric PCO₂ at rest and during exercise as a marker of intestinal perfusion in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2004;6(4):403-407.

65. Nagatomo Y, Tang WH. Intersections between microbiome and heart failure: Revisiting the gut hypothesis. *J Card Fail*. 2015;21(12):973-980.

66. Anker SD, Egerer KR, Volk HD, et al. Elevated soluble CD14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure. *Am J Cardiol*. 1997;79(10):1426-1430.

67. Conraads VM, Jorens PG, De Clerck LS, et al. Selective intestinal decontamination in advanced chronic heart failure: A pilot trial. *Eur J Heart Fail*. 2004;6(4):483-491.

68. Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, et al. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(16):1561-1569.

69. Dinakaran V, Rathinavel A, Pushpanathan M, et al. Elevated levels of circulating DNA in cardiovascular disease patients: Metagenomic profiling of microbiome in the circulation. *PLoS One*. 2014;9(8):e105221.

70. Sandek A, Swidsinski A, Schroedl W, et al. Intestinal blood flow in patients with chronic heart failure: A link with bacterial growth, gastrointestinal symptoms, and cachexia. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(11):1092-1102.

71. Pasini E, Aquilani R, Testa C, et al. Pathogenic gut flora in patients with chronic heart failure. *JACC Heart Fail.* 2016;4(3):220-227.
72. Yatsunenکو T, Rey FE, Manary MJ, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012;486(7402):222-227.
73. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science.* 2005;307(5717):1915-1920.
74. Kitai T, Kirsop J, Tang WH. Exploring the microbiome in heart failure. *Curr Heart Fail Rep.* 2016;13(2):103-109.
75. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011;473(7346):174-180.
76. Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, et al. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol.* 2010;16(24):2978-2990.
77. Khoshini R, Dai SC, Lezcano S, et al. A systematic review of diagnostic tests for small intestinal bacterial overgrowth. *Dig Dis Sci.* 2008;53(6):1443-1454.
78. Gasbarrini A, Lauritano EC, Gabrielli M, et al. Small intestinal bacterial overgrowth: Diagnosis and treatment. *Dig Dis.* 2007;25(3):237-240.
79. Gasbarrini A, Corazza GR, Gasbarrini G, et al. Methodology and indications of H₂-breath testing in gastrointestinal diseases: The rome consensus conference. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;29 Suppl 1:1-49.
80. Ponziani FR, Gerardi V, Gasbarrini A. Diagnosis and treatment of small intestinal bacterial overgrowth. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;10(2):215-227.

81. Bala L, Ghoshal UC, Ghoshal U, et al. Malabsorption syndrome with and without small intestinal bacterial overgrowth: A study on upper-gut aspirate using ¹H NMR spectroscopy. *Magn Reson Med*. 2006;56(4):738-744.

82. Grace E, Shaw C, Whelan K, et al. Review article: Small intestinal bacterial overgrowth--prevalence, clinical features, current and developing diagnostic tests, and treatment. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38(7):674-688.

83. Saad RJ, Chey WD. Breath testing for small intestinal bacterial overgrowth: Maximizing test accuracy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014;12(12):1964-72; quiz e119-20.

84. Levitt MD, Furne JK, Kuskowski M, et al. Stability of human methanogenic flora over 35 years and a review of insights obtained from breath methane measurements. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(2):123-129.

85. Rezaie A, Pimentel M, Rao SS. How to test and treat small intestinal bacterial overgrowth: An evidence-based approach. *Curr Gastroenterol Rep*. 2016;18(2):8-015-0482-9.

86. Pimentel M. Breath testing for small intestinal bacterial overgrowth: Should we bother? *Am J Gastroenterol*. 2016;111(3):307-308.

87. Arutyunov GP, Kostyukevich OI, Serov RA, et al. Collagen accumulation and dysfunctional mucosal barrier of the small intestine in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol*. 2008;125(2):240-245.

88. Valentova M, von Haehling S, Bauditz J, et al. Intestinal congestion and right ventricular dysfunction: A link with appetite loss, inflammation, and cachexia in chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2016;37(21):1684-1691.

89. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 of the european society of cardiology. developed in collaboration with the heart failure association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J.* 2012;33(14):1787-1847.

90. K Sunny J,Jr, Garcia CJ, McCallum RW. Interpreting the lactulose breath test for the diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth. *Am J Med Sci.* 2016;351(3):229-232.

91. Gabrielli M, D'Angelo G, Di Rienzo T, et al. Diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in the clinical practice. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013;17 Suppl 2:30-35.

92. Kim DB, Paik CN, Sung HJ, et al. Breath hydrogen and methane are associated with intestinal symptoms in patients with chronic pancreatitis. *Pancreatology.* 2015;15(5):514-518.

93. Newberry C, Tierney A, Pickett-Blakely O. Lactulose hydrogen breath test result is associated with age and gender. *Biomed Res Int.* 2016;2016:1064029.

94. Long SK, Di Palma JA. Does carbohydrate challenge testing predict clinical response in small intestinal bacterial overgrowth? *South Med J.* 2016;109(5):296-299.

95. Ghoshal UC. How to interpret hydrogen breath tests. *J Neurogastroenterol Motil.* 2011;17(3):312-317.

96. Choi CH, Chang SK. Role of small intestinal bacterial overgrowth in functional gastrointestinal disorders. *J Neurogastroenterol Motil.* 2016;22(1):3-5.

97. Nunez E, Steyerberg EW, Nunez J. Regression modeling strategies. *Rev Esp Cardiol.* 2011;64(6):501-507.

98. Lee KN, Lee OY, Koh DH, et al. Association between symptoms of irritable bowel syndrome and methane and hydrogen on lactulose breath test. *J Korean Med Sci.* 2013;28(6):901-907.
99. Rogers JK, Pocock SJ, McMurray JJ, et al. Analysing recurrent hospitalizations in heart failure: A review of statistical methodology, with application to CHARM-preserved. *Eur J Heart Fail.* 2014;16(1):33-40.
100. Komajda M, Anker SD, Charlesworth A, et al. The impact of new onset anaemia on morbidity and mortality in chronic heart failure: Results from COMET. *Eur Heart J.* 2006;27(12):1440-1446.
101. Szachniewicz J, Petruk-Kowalczyk J, Majda J, et al. Anaemia is an independent predictor of poor outcome in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol.* 2003;90(2-3):303-308.
102. Nunez J, Comin-Colet J, Minana G, et al. Iron deficiency and risk of early readmission following a hospitalization for acute heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2016;18(7):798-802.
103. Doehner W, Rauchhaus M, Ponikowski P, et al. Impaired insulin sensitivity as an independent risk factor for mortality in patients with stable chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(6):1019-1026.
104. von Haehling S, Doehner W, Anker SD. Nutrition, metabolism, and the complex pathophysiology of cachexia in chronic heart failure. *Cardiovasc Res.* 2007;73(2):298-309.
105. Bull MJ, Plummer NT. Part 1: The human gut microbiome in health and disease. *Integr Med (Encinitas).* 2014;13(6):17-22.

106. Carding S, Verbeke K, Vipond DT, et al. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microb Ecol Health Dis.* 2015;26:26191.
107. Swidsinski A, Weber J, Loening-Baucke V, et al. Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol.* 2005;43(7):3380-3389.
108. Barcenilla A, Pryde SE, Martin JC, et al. Phylogenetic relationships of butyrate-producing bacteria from the human gut. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66(4):1654-1661.
109. Ponnusamy K, Choi JN, Kim J, et al. Microbial community and metabolomic comparison of irritable bowel syndrome faeces. *J Med Microbiol.* 2011;60(Pt 6):817-827.
110. Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature.* 2012;490(7418):55-60.
111. Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, et al. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(31):11070-11075.
112. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, et al. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006;444(7122):1022-1023.
113. Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, et al. Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129(2):434-40, 440.e1-2.
114. Gehring U, Bolte G, Borte M, et al. Exposure to endotoxin decreases the risk of atopic eczema in infancy: A cohort study. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;108(5):847-854.

115. Goehler LE, Park SM, Opitz N, Lyte M, et al. *Campylobacter jejuni* infection increases anxiety-like behavior in the holeboard: Possible anatomical substrates for viscerosensory modulation of exploratory behavior. *Brain Behav Immun.* 2008;22(3):354-366.
116. Neufeld KM, Kang N, Bienenstock J, et al. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil.* 2011;23(3):255-64, e119.
117. Maes M, Kubera M, Leunis JC, et al. Increased IgA and IgM responses against gut commensals in chronic depression: Further evidence for increased bacterial translocation or leaky gut. *J Affect Disord.* 2012;141(1):55-62.
118. Benton D, Williams C, Brown A. Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61(3):355-361.
119. Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Br J Nutr.* 2011;105(5):755-764.
120. Craig RM. Small intestinal bacterial overgrowth. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2016.
121. Mann NS, Limoges-Gonzales M. The prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in irritable bowel syndrome. *HepatoGastroenterology.* 2009;56(91-92):718-721.
122. Lin HC. Small intestinal bacterial overgrowth: A framework for understanding irritable bowel syndrome. *JAMA.* 2004;292(7):852-858.

123. Pimentel M, Chow EJ, Lin HC. Eradication of small intestinal bacterial overgrowth reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(12):3503-3506.

124. Pimentel M, Chow EJ, Lin HC. Normalization of lactulose breath testing correlates with symptom improvement in irritable bowel syndrome. a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol.* 2003;98(2):412-419.

125. Kassinen A, Krogius-Kurikka L, Makivuokko H, et al. The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology.* 2007;133(1):24-33.

126. Frissora CL, Cash BD. Review article: The role of antibiotics vs. conventional pharmacotherapy in treating symptoms of irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;25(11):1271-1281.

127. Esposito I, de Leone A, Di Gregorio G, et al. Breath test for differential diagnosis between small intestinal bacterial overgrowth and irritable bowel disease: An observation on non-absorbable antibiotics. *World J Gastroenterol.* 2007;13(45):6016-6021.

128. Bauer TM, Steinbruckner B, Brinkmann FE, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in patients with cirrhosis: Prevalence and relation with spontaneous bacterial peritonitis. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(10):2962-2967.

129. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti G. High prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in celiac patients with persistence of gastrointestinal symptoms after gluten withdrawal. *Am J Gastroenterol.* 2003;98(4):839-843.

130. Rubio-Tapia A, Barton SH, Rosenblatt JE, et al. Prevalence of small intestine bacterial overgrowth diagnosed by quantitative culture of intestinal aspirate in celiac disease. *J Clin Gastroenterol.* 2009;43(2):157-161.

131. Castiglione F, Del Vecchio Blanco G, Rispo A, et al. Orocecal transit time and bacterial overgrowth in patients with crohn's disease. *J Clin Gastroenterol.* 2000;31(1):63-66.

132. Funayama Y, Sasaki I, Naito H, et al. Monitoring and antibacterial treatment for postoperative bacterial overgrowth in crohn's disease. *Dis Colon Rectum.* 1999;42(8):1072-1077.

133. Neut C, Bulois P, Desreumaux P, et al. Changes in the bacterial flora of the neoterminal ileum after ileocolonic resection for crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* 2002;97(4):939-946.

134. Castiglione F, Rispo A, Di Girolamo E, et al. Antibiotic treatment of small bowel bacterial overgrowth in patients with crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;18(11-12):1107-1112.

135. Pande C, Kumar A, Sarin SK. Small-intestinal bacterial overgrowth in cirrhosis is related to the severity of liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;29(12):1273-1281.

136. Lata J, Stiburek O, Kopacova M. Spontaneous bacterial peritonitis: A severe complication of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2009;15(44):5505-5510.

137. Sajjad A, Mottershead M, Syn WK, et al. Ciprofloxacin suppresses bacterial overgrowth, increases fasting insulin but does not correct low acylated ghrelin concentration in non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;22(4):291-299.

138. Pimentel M, Wallace D, Hallegua D, et al. A link between irritable bowel syndrome and fibromyalgia may be related to findings on lactulose breath testing. *Ann Rheum Dis*. 2004;63(4):450-452.
139. Egeberg A, Weinstock LB, Thyssen EP, et al. Rosacea and gastrointestinal disorders: A population-based cohort study. *Br J Dermatol*. 2016.
140. Fialho A, Fialho A, Thota P, et al. Higher visceral to subcutaneous fat ratio is associated with small intestinal bacterial overgrowth. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2016;26(9):773-777.
141. Rana SV, Sharma S, Kaur, et al. Comparison of lactulose and glucose breath test for diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in patients with irritable bowel syndrome. *Digestion*. 2012;85(3):243-247.
142. Tang WH, Hazen SL. The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease. *J Clin Invest*. 2014;124(10):4204-4211.
143. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*. 2011;472(7341):57-63.
144. Tang WH, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2013;368(17):1575-1584.
145. Li XS, Obeid S, Klingenberg R, et al. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide in acute coronary syndromes: A prognostic marker for incident cardiovascular events beyond traditional risk factors. *Eur Heart J*. 2017.
146. Sharma R, von Haehling S, Rauchhaus M, et al. Whole blood endotoxin responsiveness in patients with chronic heart failure: The importance of serum lipoproteins. *Eur J Heart Fail*. 2005;7(4):479-484.

147. Schwarz NT, Beer-Stolz D, Simmons RL, et al. Pathogenesis of paralytic ileus: Intestinal manipulation opens a transient pathway between the intestinal lumen and the leukocytic infiltrate of the jejunal muscularis. *Ann Surg.* 2002;235(1):31-40.

148. Tang WH, Wang Z, Fan Y, et al. Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: Refining the gut hypothesis. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64(18):1908-1914.

149. Tang WH, Wang Z, Shrestha K, et al. Intestinal microbiota-dependent phosphatidylcholine metabolites, diastolic dysfunction, and adverse clinical outcomes in chronic systolic heart failure. *J Card Fail.* 2015;21(2):91-96.

150. Suzuki T, Heaney LM, Bhandari SS, et al. Trimethylamine N-oxide and prognosis in acute heart failure. *Heart.* 2016;102(11):841-848.

151. Kumar S, Misra A, Ghoshal UC. Patients with irritable bowel syndrome exhale more hydrogen than healthy subjects in fasting state. *J Neurogastroenterol Motil.* 2010;16(3):299-305.

152. Corazza GR, Strocchi A, Gasbarrini G. Fasting breath hydrogen in celiac disease. *Gastroenterology.* 1987;93(1):53-58.

153. Martin FP, Wang Y, Sprenger N, et al. Probiotic modulation of symbiotic gut microbial-host metabolic interactions in a humanized microbiome mouse model. *Mol Syst Biol.* 2008;4:157.

154. Gorter TM, Hoendermis ES, van Veldhuisen DJ, et al. Right ventricular dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Heart Fail.* 2016;18(12):1472-1487.

155. Rauchhaus M, Coats AJ, Anker SD. The endotoxin-lipoprotein hypothesis. *Lancet.* 2000;356(9233):930-933.

156. Deitch EA, Berg R, Specian R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. Arch Surg. 1987;122(2):185-190.

