

***ANÁLISIS DE LA ALTERACIÓN DE LA PERMEABILIDAD
INTESTINAL EN PACIENTES CON INSUFICIENCIA CARDIACA
AGUDA O CRÓNICA REAGUDIZADA.***

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA. SEPTIEMBRE
2011**

M^a ROSA PAÑOS MELGOSO

DIRECTOR: DR. FRANCISCO ÁLVAREZ LERMA
(HOSPITAL DEL MAR, BARCELONA)

CO-DIRECTORA: DRA. PAULA RAMÍREZ
GALLEYMORE
(HOSPITAL UNIVERSITARIO "LA FE", VALENCIA)

ÍNDICE

1- Índice.....	pág. 2
2- Abreviaturas.....	pág. 3
3- Palabras clave.....	pág. 5
4- Resumen.....	pág. 6
5- Introducción.....	pág. 8
6- Hipótesis del estudio.....	pág. 12
7- Objetivos.....	pág. 12
8- Metodología.....	pág. 13
9- Resultados.....	pág. 19
10- Discusión.....	pág. 23
11- Conclusiones.....	pág. 26
12- Tablas descriptivas.....	pág. 27
13-Bibliografía.....	pág. 34

ABREVIATURAS

ACCP: Colegio Americano de Médicos del Tórax

CIC: Cardiopatía isquémica crónica

CCK: Colecistoquinina

DDS: Descontaminación digestiva selectiva

DL: Dislipemia

DM-2: Diabetes mellitus

ECMO: Membrana de oxigenación extracorpórea

FMO: Fracaso multiorgánico

HTA: Hipertensión arterial

MCPD: Miocardiopatía dilatada

FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo

FH: Fallo hepático

IC: Insuficiencia cardiaca

ICC: Insuficiencia cardiaca crónica

LPS: Lipopolisacárido

NO: Óxido nítrico

NYHA: New York Heart Association

3-OMG: 3-O-metilglucosa

ProBNP: Fragmento inactivo de la hormona péptido natriurético cerebral

PEG: Polietilen glicol

P.I. : Permeabilidad intestinal

PCT: Procalcitonina

PVC: Presión venosa central

Ratio L/M: Ratio lactulosa/manitol

SCCM: Sociedad de Medicina de Cuidados Críticos

SIRS: Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica

SVM: Saturación venosa mixta

TB: Traslocación bacteriana

UCI: Unidad de cuidados intensivos

VIP: Péptido vasoactivo intestinal

PALABRAS CLAVE

Permeabilidad intestinal e insuficiencia cardiaca, endotoxemia e insuficiencia cardiaca, ratio de lactulosa y manitol, barrera intestinal y SIRS.

RESUMEN

Objetivo: Analizar la existencia de la alteración de la permeabilidad intestinal (PI) en pacientes críticos afectados de insuficiencia cardiaca (IC) aguda o crónica (ICC) descompensada

Diseño: Estudio prospectivo observacional.

Ámbito: Servicio de Medicina Intensiva en hospital terciario

Pacientes: Pacientes ingresados en la UCI por IC aguda o ICC descompensada.

Intervenciones: Estudiamos 36 pacientes a los que se les analizó la permeabilidad intestinal mediante la prueba de lactulosa/manitol durante los 3 primeros días de evolución. Se les administró lactulosa y manitol por vía enteral con recogida de la diuresis de las 5 horas siguientes para calcular el ratio de lactulosa/manitol. Paralelamente se extrajeron muestras sanguíneas para determinación de procalcitonina, interleuquinas, anticuerpos antiendotoxina, proBNP, leucocitosis, creatinina, transaminasas y prealbúmina. Se recogieron todas las variables clínicas.

Resultados: El 100% de los pacientes presentaron alteración de la P.I.(el 89% el primer día, el 97% el segundo día y el 93 % el tercero). No encontramos diferencias en el ratio L/M según la gravedad de los pacientes (medida por la escala Killip o por la necesidad de drogas vasopresoras o inotropas). Encontramos una correlación positiva entre el ratio L/M y la hipoperfusión tisular medida por lactato sérico en cada uno de los días analizados $r = 0.79$ ($p < 0.001$), $r = 0.48$ ($p = 0.09$) y $r = 0.51$ ($p = 0.01$). La cinética de la alteración de la permeabilidad fue diferente entre los supervivientes y los fallecidos. El 66% de los supervivientes (frente al 33% de los fallecidos) mostró una mejoría de la alteración intestinal (disminución del ratio L/M) ($p = 0.091$). También fue casi constante la correlación entre el ratio L/M y la procalcitonina sérica $r = 0.84$ ($p < 0.0001$), $r = 0.15$ ($p = 0.37$) y $r = 0.38$ ($p = 0.15$).

Conclusiones: Existe una alteración funcional de la permeabilidad intestinal en los pacientes críticos con insuficiencia cardíaca aunque no se ha podido relacionar ésta con la gravedad y el pronóstico del paciente definida por clasificación Killip y empleo de inotropo positivos con o sin vasopresores. Observamos una relación entre la afectación intestinal y la hipoperfusión sistémica del paciente con IC. Parece haber una asociación entre la mejora de la función intestinal y la supervivencia de los pacientes. Finalmente hemos encontrado una relación entre la elevación de cifras de procalcitonina y la alteración de la P.I. que podría sustentar la teoría de la TB como fuente de los signos propios de infección que con frecuencia presentan este tipo de pacientes.

INTRODUCCIÓN

La pared intestinal fisiológica está formada por una barrera mecánica celular, uniones intercelulares, barrera inmunológica, flora bacteriana y el eje hígado-intestino. La alteración de cualquiera de estos componentes podría ser responsable de la TB o del paso de sus toxinas (21). El fracaso de la barrera se manifiesta por deterioro en la absorción de nutrientes, alteración de la respuesta inmune intestinal y aumento de la PI (ésta última comprobado en pacientes ingresados en UCI por cirrosis, trasplantados, trauma grave, bypass cardiopulmonar, quemados y también en experimentación con animales)(2,3,6,14,16,18).

La luz intestinal contiene una enorme cantidad de noxas capaces de producir daño tanto a nivel local como sistémico cuyo origen puede ser: alimentos (antígenos, lectinas), microorganismos y sus toxinas (virus, parásitos, bacterias, endo y exotoxinas) y secreciones (HCl, enzimas y sales biliares).

A modo de resumen se puede dividir la barrera intestinal en tres fases (21,36):

1- Barrera preepitelial: El ácido HCl limita la proliferación de bacterias. Su inhibición facilita la colonización por gérmenes enteropatógenos o sobredesarrollo de flora indígena. Las secreciones pancreáticas, biliar e intestinal son ricas en IgA secretora. Las sales biliares ejercen acción bacteriostática y su obstrucción se asocia a mayor incidencia de endotoxemia y disfunción renal en postoperados de cirugía biliar. Las células de Paneth intervienen en el control de la población bacteriana. La motilidad intestinal es el factor más importante para impedir el estancamiento y sobredesarrollo bacteriano. La inhibición con antibióticos de la flora bacteriana indígena (en torno a 500 especies) sobretodo la anaerobia favorece la instalación de enteropatógenos

2- Barrera epitelial: Las células de la mucosa están dispuestas en empalizada y recubiertas por *mucus* e Ig A, tiene capacidad de expresar moléculas presentadoras de antígenos a los linfocitos de la mucosa e intervienen activamente en la iniciación de la respuesta inflamatoria local secretando IL-8 (importante señal quimiotáctica para neutrófilos) ante la presencia de toxinas o penetración bacteriana en la membrana epitelial. Contiene aproximadamente el 75% del tejido

inmune corporal. El recambio celular (4-6 días en intestino delgado, y 3-5 días en el grueso) disminuye con el desuso, desnutrición y carencias de zinc, ácido fólico ó Vitamina B12. A su vez su vitalidad depende de un adecuado flujo vascular (25% del gasto cardíaco en condiciones normales, que supone la mitad del flujo al cerebro y corazón, pero diez veces más que al músculo esquelético), pero el flujo no es uniforme, siendo la proporción del 75% entre mucosa-submucosa y del 25% en la muscular. Durante la digestión el flujo aumenta entre dos y tres veces, y durante el ejercicio intenso se reduce hasta en un 80% (lo cual se contrarresta con una mayor extracción de O₂). El flujo esplácnico de arteriolas y vénulas está regulado por endotelina, interleuquinas, NO, bradiquinina y prostaciclina. El sistema simpático, parasimpático, sensorial primario y nervioso entérico regulan el flujo a través de sus terminaciones neuronales. A su vez actúan factores circulantes como gastrina, CCK o VIP con acción vasodilatadora, y la angiotensina II (**secretada en la ICC**) como vasoconstrictora que también prolonga la acción de la adrenalina sobre las arteriolas lo cual reduce aún más el flujo intestinal. Por último hay factores metabólicos locales como prostaciclina y NO que son vasodilatadores aumentando la circulación mucosal.

3- Barrera postepitelial: Cuando una noxa atraviesa la barrera intestinal puede ser destruída total o parcialmente por macrófagos, procesada o no por el sistema inmunológico y/o alcanzar el torrente sanguíneo, linfa y peritoneo. Existe un mecanismo de tolerancia oral para evitar conflictos inmunológicos con antígenos habituales de la luz, inhibiendo una respuesta sistémica e induciendo secreción de Ig A para excluir los antígenos a la luz (según la dosis o tipo de antígeno). Es decir, que en condiciones normales se trata de una inflamación controlada ante antígenos habituales, pero en situaciones de fallo de la barrera preepitelial o epitelial una entrada masiva de antígenos, microorganismos, toxinas u otros inflamógenos pueden desencadenar intolerancia inmunológica tanto local como sistémica aún cuando la noxa en cuestión sea destruída o neutralizada en la mucosa intestinal.

La membrana intestinal, al estar en contacto con el medio ambiente de la luz intestinal, tiene una doble funcionalidad, como barrera que evita la penetración de las noxas externas (bacterias o fragmentos de las mismas, antígenos de diverso origen, agentes carcinogénicos, etc.) y como membrana de absorción específica de

sustancias fundamentales (nutrientes, agua, electrolitos, vitaminas, etc.). Se ha demostrado que el transporte de macromoléculas a través de la mucosa intestinal tiene lugar por diferentes vías (37):

- 1.- Endocitosis activa mediada por receptores (3-OMG)
- 2.- Endocitosis pasiva mediada por receptores (D-xylosa)
- 3.- Penetración pasiva a través del enterocito (Rhamnosa)
- 4.- Paso a través de las uniones intercelulares (tight junctions) (Lactulosa, Melibiosa)

Las tres primeras constituyen el paso o vía transcelular y la última, la vía paracelular.

El estudio de la PI se puede realizar mediante la administración de diferentes partículas o moléculas, que atraviesan la mucosa mediante difusión pasiva exclusiva. Sea cual sea la sustancia que se administre, los resultados han de expresarse en forma de porcentaje de la dosis suministrada entre moléculas de diferente tamaño para obviar el efecto que, variables farmacodinámicas incontrolables, puedan producir sobre la difusión y la excreción de una única sustancia administrada para dichos fines. Los marcadores o moléculas más utilizadas han sido: Los monosacáridos y azúcares de bajo peso molecular y bajo radio de sección como: la D-Xilosa, la L-Rhamnosa y el Manitol. Los disacáridos o azúcares de mayor peso molecular como: la lactulosa, el etilen-diamino-tetreacético (EDTA) marcado con Cr51 o Tc99, la rafinosa, la estaquiosa, el FITC-dextran, poliglicoles (PEG). Las sustancias de mayor uso generalizado para este tipo de estudio han sido lactulosa/manitol. A modo de resumen se diría que en pacientes con ICC hay mayor paso de sustancias que no requieren transportador (lactulosa) y menor paso de las que requieren transportador tanto activo como pasivo (D-xylosa y 3-OMG) lo que se explicaría por la isquemia intestinal inducida que no puede mantener el transporte ATP-dependiente. Un ejemplo sería la ICC, la cual conduce a una activación permanente del sistema simpático el cual contribuye a la redistribución del flujo sanguíneo fuera del territorio esplácnico; además del aumento de angiotensina II, edema de pared por congestión, etc...

En el área de la medicina intensiva el interés por el intestino creció a raíz de la demostración en los años 80 de que sólo un tercio de los pacientes críticos con sepsis tenía un foco definido de infección (15,31,32,34). La alteración de la pared

intestinal se puede medir antes de que se muestren clínicamente los signos de hipoperfusión (5,6,12). El intestino está en contacto con millones de gérmenes por lo que su integridad es muy importante para evitar el paso de los mismos al interior de nuestro organismo. A pesar de múltiples estudios que intentan caracterizar el estado de la permeabilidad intestinal, actualmente persiste la controversia sobre si en el paciente crítico la translocación bacteriana (TB) es motor del fracaso multiorgánico (FMO) o viceversa (2,3,6,7,14,15,31,32,34).

La insuficiencia cardiaca se ha reconocido como una alteración multisistémica y de inflamación crónica donde se encuentran cifras elevadas de citokinas inflamatorias (como el TNF- α e interleukina IL-6) (1,10,39). Aunque el origen de estas citokinas no está aún bien aclarado sí se conoce su efecto deletéreo sobre el miocardio (a nivel de remodelado ventricular con hipertrofia, fibrosis y apoptosis) (39). Dentro de la afectación multiorgánica de la insuficiencia cardiaca, el intestino es uno de los sistemas que sufre un estado crónico de hipoperfusión. Esta hipoperfusión afectaría a la mucosa intestinal provocando una alteración de los mecanismos de defensa tanto inmunológicos como mecánicos (1,37,38) y por tanto permitiendo la traslocación bacteriana y la consiguiente inflamación sistémica.

En pacientes con ICC se han publicado estudios contradictorios acerca de la existencia de una alteración a nivel epitelial que podría explicar el estado crónico de inflamación detectado, pero no son equiparables dado que se ha empleado métodos distintos de determinación (lactulosa/manitol vs Cr-EDTA) (1,22,23). La afectación intestinal consiste en un patrón de absorción alterado a nivel de pequeña y gran permeabilidad, mayor cantidad de bacterias en la mucosa del intestino, aumento del grosor de la pared y de cifras elevadas de TNF y lipopolisacárido (1,8,-,12,16,18,20,24,26-27,35). Sin embargo, no ha podido ser constatado el paso de bacterias completas viables al torrente sanguíneo en los pacientes con ICC y afectación intestinal, pero sí un aumento plasmático de IgA anti-lipopolisacáridos.

Con nuestro trabajo pretendemos comprobar la existencia o no de una alteración de la PI en pacientes afectados de insuficiencia cardiaca aguda o crónica descompensada que requieren ingreso en la UCI. Intentaremos relacionar la alteración de la PI con el estado clínico de los pacientes y trataremos de probar la asociación entre la alteración de la PI y el aumento de biomarcadores de inflamación/sepsis.

HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

Los pacientes críticos con insuficiencia cardiaca aguda o crónica descompensada tienen una alteración funcional de la permeabilidad intestinal.

OBJETIVOS

La alteración funcional de la P.I. se expresa con un mayor paso de sustancias que en condiciones normales no atraviesan la barrera intestinal (lactulosa) pero sí lo haría en condiciones de hipoperfusión intestinal mediada por un efecto agudo global de vasoconstricción periférica que preserva los “órganos nobles”. Ante una mayor intensidad de la insuficiencia cardiaca encontraríamos una mayor alteración de la permeabilidad intestinal por lo que el “paso libre” de sustancias a través de la pared intestinal podría explicar el estado proinflamatorio en el que se encuentran estos pacientes debido a la respuesta ante la invasión de gérmenes intestinales o de sus toxinas (LPS). Por ello el objetivo principal y los objetivos secundarios de este trabajo de investigación para demostrar la hipótesis alternativa propuesta son:

Primario: Demostrar la alteración de la permeabilidad intestinal en pacientes críticos diagnosticados de IC aguda o ICC descompensada mediante la determinación en orina del ratio lactulosa/manitol.

Secundario: Relacionar la gravedad clínica y el pronóstico del paciente crítico con IC aguda o ICC descompensada con la existencia de mayor alteración de la determinación en orina del ratio lactulosa/manitol.

Terciario: Relacionar la existencia de una mayor alteración de la permeabilidad intestinal en pacientes críticos ingresados por IC aguda o ICC descompensada con los parámetros clásicos de sepsis.

METODOLOGÍA

* **Diseño del estudio:** Estudio prospectivo observacional.

* **Criterios de inclusión:** Todos los pacientes ingresados en la UCI que dieron su consentimiento y que cumplieron los criterios diagnósticos de insuficiencia cardiaca según la Sociedad Europea de Cardiología (38):

a) Síntomas de IC (disnea de reposo o durante el esfuerzo o bien astenia)

b) Signos de retención hídrica como congestión pulmonar o edema periférico

c) Datos objetivos de alteración estructural o funcional del corazón en reposo (cardiomegalia, alteraciones ecocardiográficas, elevación de péptidos natriuréticos >2000 pg/ml...).

Durante toda la fase de recogida de muestras los pacientes recibieron el tratamiento habitual de la insuficiencia cardíaca según criterio del médico responsable (IECAS, b-bloqueantes, diurético de asa y ahorradores de potasio, vasodilatadores, inotropos positivos, vasopresores, antiagregantes en caso de IC isquémica...). En ningún caso se modificó la toma de su medicación por nuestra parte, salvo retirada de lactulosa como laxante.

* **Criterios de exclusión:** Signos o sospecha de infección al ingreso, diarrea que no permitía administrar el laxante, uso de lactulosa o manitol como tratamiento concomitante, enfermedad intestinal inflamatoria (Chron, colitis ulcerosa), insuficiencia renal anúrica, uso reciente de quimioterapia, infección por H1N1, cáncer de colon, shock mixto, negación a participar en el estudio.

* **Lugar de estudio:** UCI médica de 21 camas en un hospital terciario (Hospital Universitario “La Fe”)

* **Duración del estudio:** de junio 2009 a abril 2010.

* **Método seguido para la obtención de muestras :** A media noche se suspendió toda alimentación oral (salvo medicación) y se añadió soporte parenteral durante

todo el periodo de ayuno. Tras 8 horas y previo vaciamiento de la vejiga, se administró por vía enteral (por boca o por sonda nasogástrica) 10 g de lactulosa y 5 g de manitol disueltos en 50 mL de agua (dada la tendencia del manitol a precipitar con la luz tuvo que ser calentado para deshacer los cristales formados y posteriormente ser tapado con papel opaco para evitar que precipitara de nuevo).

Se recogió la diuresis de las 5 horas siguientes (de 8.00 a 13.00 h) tomando 10 cc de muestra y se congeló a -80° C hasta el momento de su procesamiento. A las bolsas de diuresis se les añadió clorhexidina al 5% para evitar el posible consumo bacteriano de los azúcares. Las muestras se recogieron a la misma hora durante tres días seguidos. El análisis consiste en la determinación en orina del ratio lactulosa/manitol ya que en condiciones normales la lactulosa se absorbe en cantidades $< 2\%$ a través de las uniones paracelulares de los enterocitos y aumenta en un intestino aturdido (1,4,5,15).

Al mismo tiempo se recogieron muestras sanguíneas para analizar procalcitonina, cuyo suero se congeló a -80° C.

*** Variables a estudio:**

Variables descriptivas: Sexo, edad, motivo de ingreso en la UCI, antecedentes patológicos, NYHA basal, Killip, ecografía al ingreso, cifras de proBNP, PVC, ácido láctico, necesidad de soporte ventilatorio, necesidad de inotropo positivo o vasopresores, cifras de creatinina y transaminasas, prealbúmina, existencia de fiebre, leucocitosis, determinación de procalcitonina, endotoxina y citoquinas, tratamiento antibiótico y foco de infección probable, signos de sepsis o SIRS, fecha alta de la UCI, mortalidad intraUCI.

Variables del estudio: Determinación en orina del ratio lactulosa/manitol en el mismo paciente durante tres días seguidos.

Evolución clínica de los pacientes

Presencia de signos de sepsis y diagnóstico de infección.

*** NYHA** (New York Heart Association): I (sin limitación para la actividad física), II (limitación ligera para la actividad física), III (limitación marcada para la actividad física ligera), IV (incapacidad para realizar cualquier actividad física).

* **Clase funcional Killip** (criterio clínico para insuficiencia cardíaca): I (sin signos ni síntomas de IC), II (estertores o crepitantes húmedos, tercer ruido cardíaco o aumento de PVC), III(edema agudo de pulmón), IV(shock cardiogénico). Esta es la clasificación empleada como marcador de gravedad de nuestros pacientes.

* **Valoración ecocardiográfica:** Se realizó en las primeras 24h del ingreso, mediante el método Simpson, con el mismo ecógrafo pero con diferentes cardiólogos.

* **Definición de broncopatía:** Incluimos en este mismo apartado a todos los pacientes que cumplan criterios clínicos de bronquitis (diagnosticados previamente o no), que presenten síndrome de apnea obstructiva durante el sueño o sean fumadores activos de un paquete al día.

* **Fallo hepático retrógrado:** Definido por aumento de transaminasas por encima de 500UI/L sin patología hepática previa.

* **proBNP:** péptido natriurético producido en los miocitos ventriculares como consecuencia de la distensión de los mismos por sobrecarga de presión o volumen, produciendo vasodilatación y natriuresis. Se emplea como marcador de IC con valores por encima de 2000 pg/ml (39).

* **Ácido láctico:** Biomarcador usado como parámetro de hipoperfusión celular. Sus valores normales son 0.7-1.5 mmol/L.

* **Inotropos positivos:** Fármacos que potencian la contractilidad miocárdica (en este estudio se usan dobutamina y levosimendám)

* **Vasopresores:** Fármacos que aumentan el tono de la musculatura lisa para aumentar la tensión arterial (en este estudio empleamos dopamina y noradrenalina)

* **Prealbúmina:** Glicoproteína sintetizada en el hígado que informa del estado nutricional del paciente crítico por su rápida tasa de recambio (vida media de 2 días) en comparación con albúmina (vida media de 20 días). Sus valores normales están entre 16-42 mg/dl.

* **Procalcitonina (PCT):** Prohormona de calcitonina producida por numerosos tipos de células y órganos después de una estimulación proinflamatoria, especialmente cuando es causada por una infección bacteriana. En personas sanas, las concentraciones de PCT en plasma se encuentran por debajo de 0.5 ng/ml, pero pueden aumentar hasta 1000 ng/ml en pacientes con sepsis severa o shock séptico. Las infecciones localizadas no causan, en general, aumentos de la PCT circulante. Se analizará mediante una técnica inmunoluminométrica usando un LUMItest®PCT(B.R.A.H.M.S) Diagnostica GmbH). En el LUMItest®PCT se introducirán 2 anticuerpos monoclonales específicos contra 2 antígenos que fijan la procalcitonina y 2 sitios diferentes de unión estarán presentes en exceso. Durante el proceso de incubación ambos anticuerpos reaccionan con la molécula de procalcitonina formando un sandwich detectándose el anticuerpo luminiscente en la superficie del tubo. La intensidad de la señal luminiscente es directamente proporcional a la concentración de procalcitonina en la muestra. Después de establecer una curva estándar con concentraciones de antígeno conocidas, la concentración de procalcitonina podrá conocerse considerando la curva estándar.

* **Definición de SIRS y sepsis (criterios de ACCP/SCCM) :**

SIRS: Dos o más de los siguientes criterios: Temperatura $> 38^{\circ} \text{C}$ o $< 36^{\circ} \text{C}$, Ritmo cardíaco > 90 lpm, Ritmo respiratorio > 20 rpm o $\text{PaCO}_2 < 32$ mm Hg (< 4.3 kPa), Leucocitos $> 12\ 000$ células/ μL o $< 4\ 000$ células/ μL o $> 10\%$ formas (cayados) inmaduras.

Sepsis: Infección documentada con 2 o más criterios SIRS.

Sepsis severa: Sepsis asociada con disfunción orgánica como, por ejemplo, acidosis láctica, oliguria, hipoxemia, trastornos de coagulación o una alteración aguda del estado mental.

Shock séptico: Sepsis con hipotensión, a pesar de la adecuada reposición de fluidos, junto con presencia de anomalías de perfusión.

* **Tratamiento antibiótico:** Se excluyen los antibióticos empleados para la descontaminación digestiva. En nuestro medio usamos colistina, tobramicina y

anfotericina B cada 6h en forma de pasta orofaríngea y cefotaxima o ceftriaxona durante los tres primeros días.

* **Determinación ratio lactulosa/manitol:** El tratamiento de la muestra de orina una vez descongelada fue de manera consecutiva el siguiente: Agitar (Vortes 10 seg.), centrifugar y recoger una alícuota de 20 μ L del sobrenadante, precipitar proteínas con 180 μ L CH₃CN (4C), centrifugar (13000 rpm, 10 min, 4C), recoger 20 μ L sobrenadante, añadir 180 μ L H₂O + 5 μ L Internal Standard (D-FGlucose-d7, 4650 μ M) y analizar en el HPLC-MS/MS.

Para la interpretación de resultados nos hemos basado en estudios anteriores sobre sujetos sanos adultos y niños que toman el punto de corte del ratio lactulosa/manitol como normal en 0.0209 ± 0.0009 en adultos ⁽⁴¹⁾ y en 0.024 (rango 0.018-0.030) en niños ⁽⁴²⁾. “Ratio 1” hace referencia al ratio lactulosa/manitol del primer día, “Ratio 2” al ratio lactulosa/manitol del segundo día y “Ratio 3” al ratio lactulosa/manitol del tercer día. “Peor ratio” hace referencia al valor más alto del ratio L/M de cada paciente (no discrimina entre ratio 1,2 ó 3 pudiendo ser cualquiera de los tres).

* **Datos de los pacientes:** los analizados en las variables descriptivas.

* **Recogida y análisis de datos:** los datos se recogieron en base de datos SPSS 17.0 y se analizaron estadísticamente mediante dicho programa. Se garantizó la confidencialidad de los datos. Evaluado por el Comité de Bioética del hospital, dado que se emplearon sustancias (lactulosa y manitol) que no formaban parte del tratamiento explícito de la insuficiencia cardíaca se consideró necesaria la petición del Consentimiento Informado.

Se calculó la media, mediana, desviación estándar, valor mínimo y máximo para las variables continuas y las frecuencias relativas y absolutas para las categóricas. También se utilizó la descripción gráfica de dichas variables utilizando gráficos de Barras para ambas. En el análisis de las variables del estudio se utilizaron tablas de contingencia para datos demográficos, coeficiente de correlación de Pearson para variables cuantitativas (o prueba de Fisher en su caso) y prueba t de student para muestras independientes en la comparación entre variables categóricas y cuantitativas.

Todos los test se realizaron con un nivel de significación $p=0'05$ y los intervalos de confianza, con una confianza 1-p.

***Tamaño muestral:** Desde junio de 2009 a abril 2010 ingresaron en la UCI 55 pacientes por insuficiencia cardiaca. 19 pacientes fueron excluidos por presentar criterios de exclusión. Finalmente se incluyeron 36 enfermos.

RESULTADOS

Desde junio de 2009 a abril 2010 ingresaron en la UCI 55 pacientes por insuficiencia cardiaca. 19 pacientes fueron excluidos por presentar los siguientes criterios de exclusión: infección al ingreso, enfermedad de Chron, insuficiencia renal anúrica, uso reciente de quimioterapia, infección por H1N1, cáncer de colon, shock mixto, negación a participar en el estudio. Finalmente se incluyeron 36 enfermos. Las muestras se recogieron a la misma hora durante tres días seguidos, salvo en aquellos casos donde el paciente falleció al tercer día (2 casos), se tiró la bolsa de diuresis antes de la recogida de la misma (3 casos), no se pinzó la sonda tras administración de la preparación o no se paró la nutrición enteral (1 caso en cada situación). Tras constatar el fallo, en todos esos casos donde se perdió la muestra se repitió de nuevo la prueba ese mismo día (excepto para los Exitus).

1- Características de la población: Tabla 1.

El 61% fueron hombres, la edad media de los pacientes fue de 66 años (DE 13). El Killip al ingreso fue del 63.9% para el estadio II y III y del 36.1% para el estadio IV. El 58.3% de los pacientes tenían insuficiencia cardiaca previa al ingreso.

Dentro de los antecedentes patológicos más relevantes, los más frecuentes fueron DM-2 (50%) , Broncopatía (33.3%), HTA (33%), CIC (26.1%) y Dislipemia (26%). La fracción de eyección del ventrículo izquierdo mediante ecografía medida al ingreso supuso una media del 26% (DE 16,45). Las cifras de ácido láctico al ingreso como marcador de hipoperfusión fué de 2,49 mmol/L (DE 3,08). Los valores de PCT y de leucocitos al ingreso fueron respectivamente 0,79 ng/ml (DE 1,45) y 12325 mm³/ L (DE 4344).

2- Descripción del estado de la permeabilidad intestinal: Figura 1.

Todos los pacientes incluidos en el estudio presentaron alteración de la permeabilidad intestinal (ratio L/M >0.02). Desglosado durante el seguimiento de los pacientes el primer día, de 36 pacientes el 88.88% tuvo alteración de la PI. El segundo día, de 33 pacientes el 96.9 % tuvo alteración de la PI. El tercer día, de 31 pacientes el 93.5 % tuvo alteración de la PI. No hubo relación entre el peor ratio

de los tres días y la existencia previa o no de IC 0.17 ± 0.12 y 0.19 ± 0.26 con $p = 0.81$. Los valores absolutos (media \pm DE) se muestran en la Tabla 2.

3. Relación entre la alteración de la permeabilidad intestinal y la gravedad de los pacientes:

No existe diferencia significativa entre el peor valor de ratio L/M de cada paciente y el peor estado de gravedad sufrido durante los tres días del mismo paciente definido por clínica Killip II-III (0.16 ± 0.13) y IV (0.19 ± 0.25) con $p = 0.091$. Tras desglosar los resultados por cada uno de los días analizados tampoco observamos diferencias significativas al comparar a los pacientes más graves (Killip IV) con el resto (Killip II-III) (Tabla 3).

Si analizamos la gravedad de los pacientes en función de la necesidad de drogas inotrope positivas o vasopresores, aunque observamos una tendencia a una mayor alteración de la permeabilidad en los pacientes tratados, no encontramos significación estadística según el peor ratio L/M: uso o no de vasopresores L/M 0.20 ± 0.25 vs L/M 0.15 ± 0.13 ; $p = 0.47$, uso o no de inotropos L/M 0.2 ± 0.26 vs L/M 0.16 ± 0.12 ; $p = 0.62$, uso o no de inotropos junto a vasopresores L/M 0.22 ± 0.28 vs L/M 0.15 ± 0.12 ; $p = 0.36$. Tras desglosar los resultados por cada uno de los días analizados sigue existiendo una tendencia a una mayor alteración de la permeabilidad en aquellos pacientes que requirieron vasopresores y/o inotropos pero sin significación estadística (Tabla 4).

No existe una relación lineal mediante la correlación de Pearson entre los valores del ratio L/M del día uno con los valores de proBNP del mismo día ($r = 0.18$; $p = 0.29$), valores del ratio L/M del segundo día con los valores de proBNP del mismo día ($r = 0.14$; $p = 0.45$) y valores del ratio L/M del tercer día uno con los valores de proBNP del mismo día ($r = 0.14$; $p = 0.94$).

Encontramos una relación lineal mediante la correlación de Pearson entre los valores del ratio L/M del día uno con los valores de láctico del mismo día ($r = 0.79$; $p < 0.001$), valores del ratio L/M del segundo día con los valores de láctico del mismo día ($r = 0.48$; $p = 0.09$) y valores del ratio L/M del tercer día uno con los valores de láctico del mismo día ($r = 0.51$; $p = 0.01$).

4. Relación entre la alteración de la permeabilidad y el pronóstico de los pacientes:

En los pacientes supervivientes encontramos un menor ratio L/M (0.09 ± 0.06) frente a los fallecidos (0.16 ± 0.18) aunque la diferencia no fue significativa ($p 0.17$). Tras desglosar los resultados por cada uno de los días analizados tampoco observamos diferencias significativas entre los fallecidos y los supervivientes aunque se mantuvo la tendencia a un peor ratio L/M en los primeros (Tabla 5).

La cinética de la alteración de la permeabilidad fue diferente entre los supervivientes y los fallecidos. El 66% de los supervivientes (frente al 33% de los fallecidos) mostró una mejoría de la alteración intestinal (disminución del ratio L/M) ($p 0.091$) (Fig 2).

5. Relación entre la alteración de la permeabilidad y el estado nutricional de los pacientes:

A pesar de que un elevado porcentaje de los pacientes evaluados presentaban datos que indicaban un estado de desnutrición importante (72.72%) con $13,22 \text{ mg/dl} \pm 6,13$ no observamos una correlación positiva con la media de los tres días del ratio L/M y niveles de prealbúmina ($r -0.239$; $p 0.285$).

6. Relación entre la alteración de la permeabilidad y la existencia de sepsis:

Durante los tres primeros días sólo presentaron $T^a > 38.5 \text{ }^\circ\text{C}$ el 8% de los pacientes. Ninguno de ellos presentó $T^a < 36 \text{ }^\circ\text{C}$. Si analizamos con valores numéricos cada día por separado obtenemos para el primer día $37.00 \pm 0.94 \text{ }^\circ\text{C}$, para el segundo $37.00 \pm 0.87 \text{ }^\circ\text{C}$ y para el tercero $36.96 \pm 0.56 \text{ }^\circ\text{C}$.

Si evaluamos el número de leucocitos obtenemos para primer día $11817 \pm 4262 \text{ mm}^3/\text{L}$, para el segundo $21500 \pm 11623 \text{ mm}^3/\text{L}$ y para el tercero $10981 \pm 4512 \text{ mm}^3/\text{L}$.

Ninguno de los pacientes presentó infección diagnosticada durante el periodo de estudio (tres días), aunque sí hubo aislamientos microbiológicos en fechas posteriores (25%).

A pesar de no haber aislamientos microbiológicos durante las fechas del estudio el 30.55% de los pacientes llevó tratamiento antibiótico empírico (no

contando como tal la profilaxis para DDS y soporte ECMO). Sólo un paciente venía diagnosticado desde domicilio de artritis infecciosa por *S.epidermidis* llevando tratamiento dirigido con linezolid oral para acabar su ciclo antibiótico.

La evolución de las cifras de procalcitonina fueron para primer día $1.13 \pm 2.23\text{ng/ml}$, para el segundo $1.95 \pm 4.92\text{ng/ml}$ y para el tercero $1.74 \pm 3.51\text{ng/ml}$.

No encontramos correlación al intentar relacionar el ratio L/M de cada día con la cifra de leucocitosis el primer día $r = 0.13$ (p 0.43), segundo día $r = 0.16$ (p 0.35) y tercer día $r = 0.17$ (p0.35).

Encontramos una relación inversa, aunque no significativa, al intentar relacionar el ratio L/M del primer día con la temperatura para el primer día con $r = - 0.10$ (p=0.54), valores del ratio L/M del segundo día con la temperatura del mismo día con $r = - 0.18$ (p 0.29) y valores del ratio L/M del tercer día con la temperatura del mismo día con $r = - 0.17$. (p 0.36)

Finalmente, sí que encontramos una correlación significativa entre el ratio L/M del primer día con la cifra de PCT para el primer día con $r = 0.84$, (p 0.0001) valores del ratio L/M del segundo día con la PCT del mismo día con $r = 0.15$ (p 0.37) y valores del ratio L/M del tercer día con la PCT del mismo día con $r = 0.38$ (p 0.035).

DISCUSIÓN

Los principales hallazgos de este trabajo son: la constatación de que en los pacientes críticos con insuficiencia cardiaca aguda o crónica descompensada existe una alteración de la permeabilidad intestinal, la asociación entre la hipoperfusión celular (medida por lactato) y la afectación intestinal, la detección de una tendencia a la mejora de la alteración intestinal en aquellos pacientes que sobreviven y la observación de una correlación entre el grado de disfunción de la barrera intestinal y la cifra de procalcitonina sérica.

La pérdida de la función de barrera de la mucosa intestinal se puede comprobar mediante el paso de disacáridos desde el tránsito intestinal hacia el torrente sanguíneo a través de las uniones intercelulares, uniones que en condiciones normales presentan una casi impermeabilidad a la lactulosa (<2%). La afección intestinal en enfermedades que no afectan directamente al sistema gastrointestinal se ha comprobado en patologías como la cirrosis hepática (43). En el caso de la IC la alteración intestinal parece ser fruto de la hipoperfusión intestinal en la que se encuentran estos pacientes (39). Esta situación se ha estudiado en pacientes con IC crónica y ha sido posible establecer una asociación con la presencia de endotoxina y marcadores inflamatorios en sangre (1). Tras revisar los trabajos publicados sobre el tema creemos que esta es la primera vez que se constata la existencia de una disfunción de la barrera intestinal en pacientes con insuficiencia cardiaca en situación crítica aguda. Todos nuestros pacientes tuvieron cierto grado de alteración de la permeabilidad intestinal, sorprendentemente el antecedente de ICC no se asoció a una mayor disfunción intestinal.

Como objetivo secundario pretendíamos encontrar una asociación entre la gravedad clínica del paciente (empleando la clasificación de Killip y el uso de drogas vasoactivas tanto inotropos como vasopresores) y un empeoramiento claro del ratio L/M pero no hemos encontrado dicha relación. Esto podría explicarse por el pequeño número muestral y, en el caso de la escala de Killip por ser ésta una escala grosera en la que en cada estadio pueden incluirse enfermos muy diversos en cuanto a la entidad de su insuficiencia cardiaca.

Sorprendentemente tampoco hemos encontrado relación entre las cifras de proBNP (dato analítico a su vez muy extendido por su sensibilidad y especificidad como marcador de IC a partir de un corte mayor de 2000 pg/ml) y la alteración del ratio L/M. Esto podría explicarse, al igual que la clasificación de Killip, porque el proBNP aumenta a las pocas horas del sufrimiento miocárdico pero a pesar del tratamiento adecuado se mantienen niveles elevados en sangre hasta su completa eliminación, no manteniendo concordancia entre cifras de proBNP residuales con un paciente que clínicamente ya no presenta signos de ICC evidentes. Se ha visto que en pacientes con IC niveles basales elevados de proBNP se asocian a peor pronóstico, pero en nuestro caso se trata de pacientes en una situación aguda (38). Por otra parte sí que hemos encontrado una clara relación significativa entre los valores de láctico en sangre y la alteración del ratio L/M los mismos días. El ácido láctico es un indicador directo de isquemia, aunque no nos permite localizar la isquemia y por tanto si el intestino es también un órgano hipoperfundido (38,39). Sin embargo, es lógico suponer que la isquemia sistémica medida por la lactacidemia incluye también una hipoperfusión intestinal.

No hemos encontrado ningún estudio que establezca una relación entre la existencia de un daño intestinal y el pronóstico de los pacientes con IC. En nuestro trabajo observamos una tendencia a la mejoría de la disfunción de la barrera mucosa en aquellos pacientes que sobrevivieron aunque sin alcanzar significación estadística. La mejoría de la perfusión intestinal (y por tanto la disminución del ratio L/M) clínica indicaría una buena evolución clínica y un mejor pronóstico del paciente. Probablemente la tendencia observada alcanzaría significación estadística con una mayor muestra.

Como dato anecdótico encontramos una relación inversa entre la desnutrición (que presumiblemente se encuentra en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica) representada por niveles bajos de prealbúmina y el valor del peor ratio obtenido en cada paciente, de manera que a menor prealbúmina mayor deterioro de la permeabilidad intestinal. Probablemente no alcanza significación estadística por la reducida muestra (N=22).

Finalmente, como objetivo terciario pretendíamos encontrar una relación entre cifras de procalcitonina y valores alterados de permeabilidad intestinal, hecho que ha sido estadísticamente significativo. Los pacientes incluidos

carecían de foco infeccioso aparente al ingreso (era criterio de exclusión), venían de su domicilio en su mayor parte o tras estancia de horas en planta con mala evolución. La teoría de la traslocación bacteriana (entendida como el paso de bacterias completas y viables a través de la pared intestinal hacia los ganglios linfáticos o el torrente sanguíneo) y la respuesta inflamatoria sistémica que perpetúa un estado de fracaso multiórgano a día de hoy no ha podido ser demostrada fehacientemente (37). En cambio, sí se ha podido demostrar un aumento de anticuerpos anti-LPS y un mayor número de bacterias en la mucosa analizados mediante biopsia (1). La correlación positiva del ratio L/M con la procalcitonina estaría en consonancia con estos hallazgos y por tanto formaría parte de la base científica que explicaría la presencia de signos propios de infección (fiebre, leucocitosis, la misma elevación de procalcitonina) en los pacientes con IC pero sin aparente infección. Para completar el estudio de este aspecto necesitaríamos analizar la endotoxemia, el título de anticuerpos antiendotoxina y el comportamiento de otros marcadores de inflamación. Así, de manera indirecta, justificaríamos el papel clave que cumple el intestino como promotor de estado inflamatorio crónico en pacientes con ICC. Pero esta fase del estudio se hará en un segundo tiempo.

Las principales limitaciones de nuestro trabajo son el pequeño tamaño muestral que probablemente limita los resultados estadísticos y la ausencia de un grupo control de pacientes sin insuficiencia cardiaca aguda que nos permita obtener conclusiones más contundentes.

CONCLUSIONES

Hemos encontrado una alteración funcional de la permeabilidad intestinal en pacientes críticos con insuficiencia cardiaca aguda o crónica descompensada aunque no hemos podido relacionar esta alteración con la gravedad del paciente. Si que parece existir una relación entre la afectación intestinal y la hipoperfusión sistémica del paciente con IC. Aunque no de forma contundente si parece haber una asociación entre la mejora de la función intestinal y la supervivencia de los pacientes. Finalmente hemos encontrado una relación entre la elevación de cifras de procalcitonina y la alteración de permeabilidad intestinal que podría sustentar la teoría de la traslocación bacteriana como fuente de los signos propios de infección que con frecuencia presentan este tipo de pacientes.

TABLAS DESCRIPTIVAS

		Ingreso	Exitus intraUci	No Exitus	Valor p
Muestra		36	41,7	58,7	
Hombres		61	22,2	38,8	0,41
Edad (años)		66±13	64±17	67±9	0,41
NYHA basal	I	41,6	19,4	22,2	0,636
(%)	II	30,4	13,8	16,6	
	III	22,1	8,3	13,8	
	IV	5,5	0	5,5	
DM-2	%	49,9	19,4	30,5	0,735
HTA	%	33,2	16,6	16,6	0,473
DL	%	26,1	25	11,1	0,012
Arritmias	%	13,8	2,7	11,1	0,376
CIC	%	26	13,8	22,2	0,769
MCPD	%	13,8	5,5	8,3	1
Valvulopatía	%	24,9	8,3	16,6	0,705
Broncopatía	%	33,3	11,1	22,2	0,473
FH retrógrado	%	8,2	5,5	2,7	0,35
IC previa		58,3	22,2	36,1	
FE ecog (%)		26,16±16,45	19,53±14,72	30,9±16,29	0,039
PVC (mmHg)		10,20±5,60	10,71±6,21	9,73±5,14	0,646
Creatinina (mg/dl)		1,35±0,67	1,4±0,71	1,3±0,66	0,753
Láctico (mmol/L)		2,49±3,08	3,42±3,99	1,56 ±1,39	0,111
Svm (%)		52,66±19,68	56,5±8,52	50,11±24,78	0,558
proBNP (pg/ml)		7678±6523	7937±6072	7494±6968	0,84
Leucos (mm ³ /L)		12325±4344	13046±4458	11809±4294	0,4
PCT (ng/ml)		0,79±1,45	1,24±1,86	0,12±0,021	0,481
Prealbúmina (mg/dl)		13,22±6,13	12 ±5,20	12,03±6,44	0,99

Tabla 1. Datos demográficos al ingreso y divididos según muerte producida intraUCI o no.

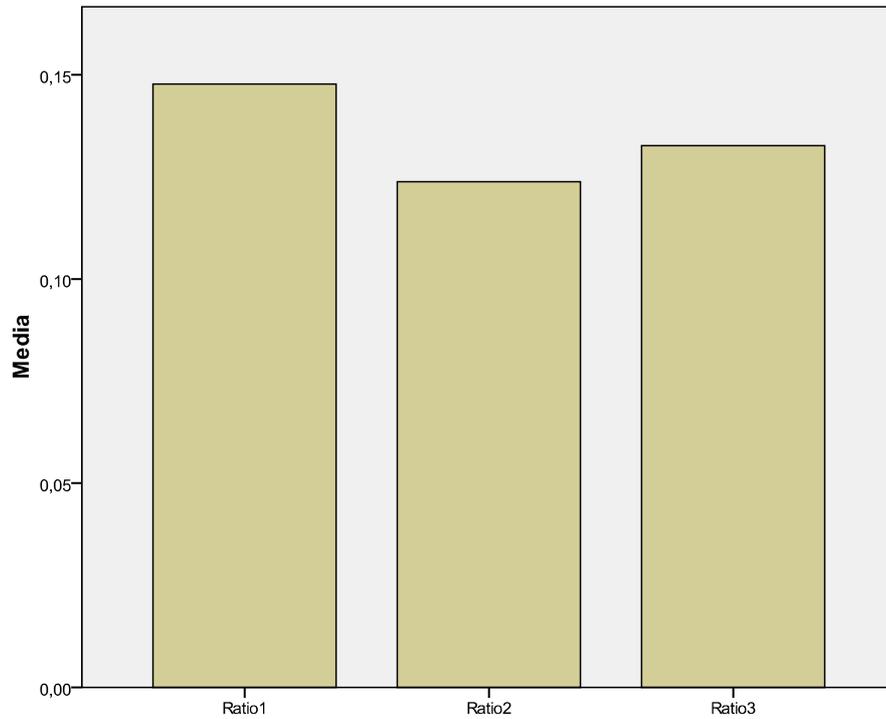


Figura 1. Media muestral de cada una de las tres determinaciones del ratio L/M.
Ratio 1: ratio lactulosa/manitol del primer día. Ratio 2 : ratio lactulosa/manitol del segundo día.
Ratio 3: ratio lactulosa/manitol del tercer día.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv.tip
Ratio 1	36	0.00	1.12	0.13	0.19
Ratio 2	33	0.02	0.58	0.11	0.11
Ratio 3	31	0.00	0.67	0.12	0.13

Tabla 2. Descripción del ratio L/M de cada día

Ratio 1: ratio lactulosa/manitol del primer día. Ratio 2 : ratio lactulosa/manitol del segundo día.

Ratio 3: ratio lactulosa/manitol del tercer día.

	Killip II-III	Killip IV	p
Ratio 1	0.12 ± 0.12	0.14± 0.25	0.709
Ratio 2	0.93 ± 0.85	0.14 ± 0.14	0.22
Ratio 3	0.12 ± 0.10	0.13 ± 0.15	0.79

Tabla 3. Relación entre el peor Killip de cada paciente durante los tres días y el ratio L/M correspondiente.

Ratio 1: ratio lactulosa/manitol del primer día. Ratio 2 : ratio lactulosa/manitol del segundo día.

Ratio 3: ratio lactulosa/manitol del tercer día.

	Vasopresores			Inotropos			Vaso+inotropos		
	Si	No	p	Si	No	P	Si	No	p
Ratio 1	0.11±0.11	0.15±0.25	0.50	0.16±0.27	0.11±0.11	0.44	0.17±0.29	0.10±0.11	0.28
Ratio 2	0.15±0.14	0.09±0.08	0.30	0.12±0.15	0.11±0.09	0.69	0.14±0.16	0.10±0.09	0.36
Ratio 3	0.14±0.15	0.11±0.10	0.66	0.13±0.17	0.12±0.09	0.93	0.14±0.18	0.11±0.09	0.59

Tabla 4. Relación del ratio L/M de acorde a necesidad de vasopresores, inotropos y sopresores junto a inotropos.

Ratio 1: ratio lactulosa/manitol del primer día. Ratio 2 : ratio lactulosa/manitol del segundo día.

Ratio 3: ratio lactulosa/manitol del tercer día.

	Muertos intraUCI		P
	Si	No	
Ratio 1	0.17± 0.28	0.09± 0.74	0.240
Ratio 2	0.16± 0.15	0.08±0.07	0.061
Ratio 3	0.17± 0.16	0.09± 0.10	0.108

Tabla 5. Relación entre ratio L/M y mortalidad intraUci.

Ratio 1: ratio lactulosa/manitol del primer día. Ratio 2 : ratio lactulosa/manitol del segundo día.

Ratio 3: ratio lactulosa/manitol del tercer día.

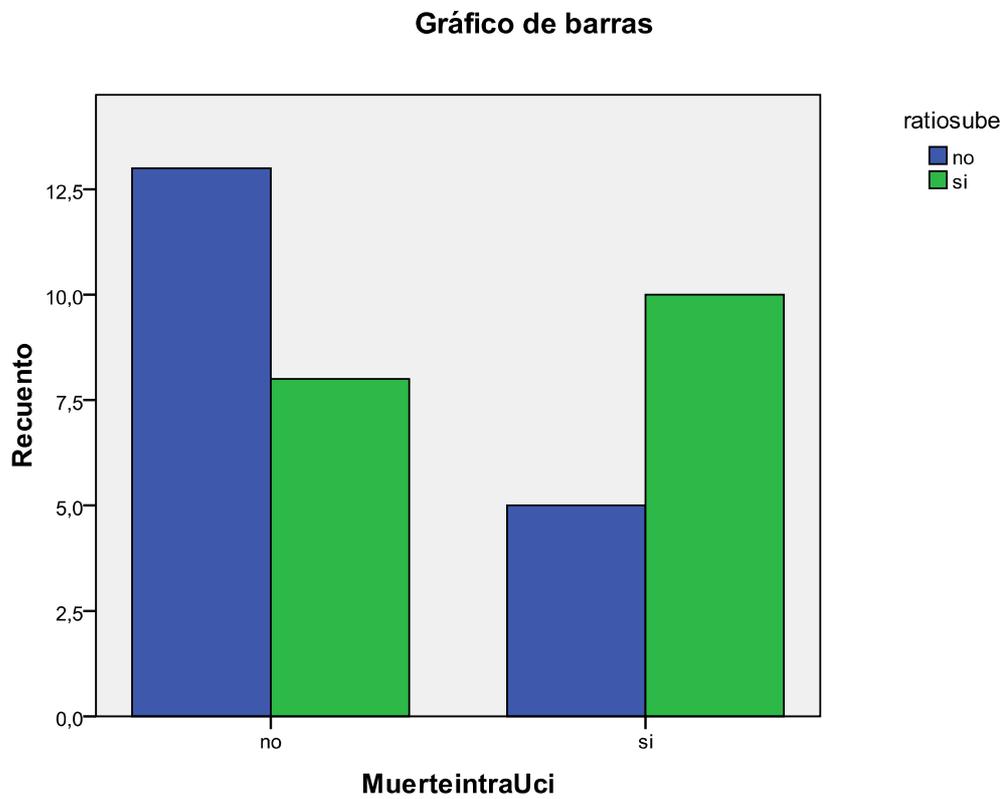


Figura 2. Relación de mortalidad intraUci y tendencia a empeoramiento del ratio L/M

BIBLIOGRAFÍA

1. Sandek A., Bauditz J., Swidsinski A., Buhner S., Weber-Eibe J.I, MD, Von Haehling S., Schroedl W., Karhausen T. Altered Intestinal Function in Patients With Chronic Heart Failure. *J Am Coll Cardiol*, 2007; 50:1561-1569.
2. Walsh Ds, Thavichaigarn P., Dheeradhada C., Jiarakul N., Pearce FC, Wiesmann GT, Cioffi WG; Webster HK. Prolonged alteration in gut permeability following nonthermal injury. *Injury* ISSN 0020-1383. 1996, vol. 27, n o 7, pp. 491-494 (14 ref.) 1996, vol. 27, n o 7, pp. 491-494 (14 ref.)
3. Kompan L., Kremzlar B., Gadzlijev E., Prosek, M. Effects of early enteral nutrition on intestinal permeability and the development of multiple organ failure after multiple injury. *Intensive Care Med* (1999) 25: 157±161.
4. Hernández Hernández A., Armas H., Oliva A., Fariña M.J., Doménech E.. Permeabilidad intestinal en neonatos *BSCP Can Ped* 2001; 25- n° 1
- 5 Van Nieuwenhoven M.A., Geerling B.J., Deutz N.E.P., Brouns F & Brummer R.J. The sensitivity of the lactulose/rhamnose gut permeability test. *European journal of clinical investigation*. ESCI.
6. Xiao-Hua Jiang, Ning Li, Jie-Shou Li. Intestinal permeability in patients after surgical trauma and effect of enteral nutrition versus parenteral nutrition. ISSN 1007-9327 CN 14-1219/R *World J Gastroenterol* 2003 Aug;9(8):1878-1880
7. Kompan L.; Kompan A.. Importance of Increased Intestinal Permeability after Multiple Injuries. *European Journal of Surgery*, Number 8, 1 August 2001, pp. 570-574(5)
8. Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure *N Engl J Med* 1990;323:236-241.
9. Rauchhaus M, Doehner W, Francis DP, et al. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure *Circulation* 2000;102:3060-3067.
10. Anker SD, von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview *Heart* 2004;90:464-470
11. Anker SD, Egerer KR, Volk HD, Kox WJ, Poole-Wilson PA, Coats AJS. Elevated soluble CD14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure *Am J Cardiol* 1997;79:1426-1430.
12. 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;6:403-407.
13. Takala J. Determinants of splanchnic blood flow *Br J Anaesth* 1997;77:50-58.
14. Doig CJ, Sutherland LR, Sandham JD, Fick GH, Verhoef M, Meddings JB. Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:444-451.
15. Deitch EA. Bacterial translocation or lymphatic drainage of toxic products from the gut: what is important in human beings? *Surgery* 2002;131:241-244.
16. Riddington DW, Venkatesh B, Boivin CM, et al. Intestinal permeability, gastric intramucosal pH, and systemic endotoxemia in patients undergoing cardiopulmonary bypass *JAMA* 1996;275:1007-1012.
17. Cirera I, Bauer TM, Navasa M, et al. Bacterial translocation of enteric organisms in patients with cirrhosis *J Hepatol* 2001;34:32-37
18. Wijtten PJA., Verstijnen JJ., Van Kempen TATG., Perdok HB., La lactulosa como marcador de la función de la barrera intestinal en los cerdos después del destete. *Journal of Animal Science* 2011, 89:1347-1357.

19. Bischoff Stephan C. BMC Medicine 2011, 9:24. biomedcentral.com/1741-7015/9/24.
20. Sandek A, Bjarnason I, Volk HD, Crane R, Meddings JB, Niebauer J, Kalra PR, Buhner S, Herrmann R, Springer J, Doehner W, von Haehling S, Anker SD, Rauchhaus M. Studies on bacterial endotoxin and intestinal absorption function in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol*. 2010 Dec 27.
21. Rodolfo Closs R., De Paula JA., *Medicina Intensiva* 2001. Editorial Ateneo.
22. Sandek A., Ander S.D., Von Hashling S. The gut and intestinal bacteria in chronic heart failure. *Current Drug Metabolism*, 2009, 10:22-28. *European Journal of Heart Failure* 9 (2007) 574-578.
23. Schaufelberger M., Ekman I., Bjornsson E., Kalaitzakis E., Ekman T. Intestinal paracellular permeability is not affected in chronic congestive heart failure.
24. Petersen J., Felker G.M.. Review paper. *Le Jacq*. December 2006. *Inflammatory Biomarkers in Heart Failure*.
25. Anker S.D., Von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart* 2004; 90:464-470.
26. Deswal A., Petersen N.J. Feldman A.M., Young J.B. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure. *Circulation*. 2001; 103:2055-2059.
27. Sharma R., Bolger A.P., Wei Li, Davlouros P.A. Elevated circulating levels of inflammatory cytokines and bacterial endotoxin in adults with congenital heart disease. *Am J Cardiol* 2003; 92:188-193.
28. Baumgarten G., Knuefermann P. Mann D.L. Cytokines as emerging targets in the treatment of heart failure. *Trends Cardiovasc Med* 2000; 10:216-223.
29. Niebauer J., Volk HD., Kemp M., Domínguez M., Schumann RR., Rauchhaus M., Poole-Wilson PA. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet* 1999; 29: 353: 1812-3.
30. Sandek A., Rauchhaus M., Anker S.D. Von Haehling S. The emerging role of the gut in chronic heart failure. *Curr Opin Nutr Metab Care* 2008. 11:632-639.
31. Doig C.J. Sutherland LL.R., Sandham D., Fick G.H. Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients. *Am J Respir Crit care med* 1998; 158:444-451.
32. O'Dwyer S.T., Michie H.R., Ziegler T.R. Revhaug A., Smith R.J. A single dose of endotoxin increases intestinal permeability in healthy humans. *Arch Surg*. 1988; 123(12): 1459-1464.
33. Lichtman S.M. Bacterial translocation in humans. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2001. 33:1-10.
34. Bion. J.F. Is the gut responsible for multiple organ failure?. Congress report. *Schweiz Med Wochenschr* 1999; 129:1600-1604.
35. Pirlich M., Norman K. Lochs Herber. Role of intestinal function in cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006. 9:603-606.
36. Cotran, Kumar, Collins. Robbins. *Patología estructural y funcional*. Editorial McGraw. 6° Ed.
37. Velasco F.N. Gut barrier in the critically ill patient: facts and trends. *Rev Méd Chile* 2006;134:1033-1039
38. Directrices para el diagnóstico y el tratamiento de la insuficiencia cardíaca aguda y crónica. Versión española 2008. European Society of cardiology.
39. Segovia Cubero J., Gómez Bueno M., Gardía-Touchard A., Alonso-Pulpón L. Todas las respuestas en insuficiencia cardíaca. Editorial McGraw-Hill. 2009.
41. Liu H., Zhang S., Yu A. Studies on intestinal permeability of cirrhotic patients by analysis lactulose and mannitol in urine with HPLC/RID/MS. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 14 (2004): 2339-2344.

42. Lostia A.M., lionetto L., Principessa L. A liquid chromatography/mass spectrometry method for the evaluation of intestinal permeability. *Clinical Biochemistry* 41 (2008):887-892.
43. Pascual S.,Such J., Esteban A., Zapater P.,.Intestinal permeability in patients with advanced cirrhosis. *Hepatogastroenterology*.2003. Sep-Oct;50(53):1482-6.