

00567
24



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FERMENTACION COLONICA DE DIFERENTES
FUENTES DE FIBRA DIETETICA

TESIS

Que para obtener el Grado de
MAESTRA EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS
presenta

MARIA DE LOS ANGELES AEDO SANTOS



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

México, D. F. 1998

266652



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

1.-Introducción	1
2.- Objetivos	2
3.- Hipótesis	3
4.- Antecedentes	4
4.1 Concepto de fibra dietética	4
4.2 Propiedades físicas de la fibra dietética	10
4.3 Efectos fisiológicos de la fibra dietética	13
4.3.1.- Absorción de sustancias orgánicas e inorgánicas	16
4.3.2.-Metabolismo de hidratos de carbono	17
4.3.3.- Cambios en el vaciamiento gástrico	18
4.3.4.- Aumento de peso del contenido gastrointestinal	19
4.3.5.- Efecto hipocolesterolémico	21
4.3.6.- Fibra como parte del tratamiento y prevención de enfermedades	22
4.4.- Fermentación colónica	26
4.5.- Efectos fisiológicos de la fermentación colónica	40
4.5.1.- Acido acético	45
4.5.2.- Acido propiónico	45
4.5.3.- Acido butírico	47
4.6.- Estudios "IN VIVO" de fermentación colónica	49
4.7.- Estudios "IN VITRO" de fermentación colónica	58
5.- Materiales y métodos	61
5.1.- Substratos para la fermentación	61
5.1.1.- Selección y obtención de substratos	61
5.1.2.- Composición química y características fisicoquímicas de las diferentes fuentes de fibra dietética	61
5.2.- Estudios "IN VITRO" de fermentación colónica	65
5.2.1.- Ensayo	65
5.2.2.- Análisis químico	67
5.2.3.- Análisis estadístico	69

5.3.- Estudios " <i>IN VIVO</i> " de fermentación colónica	71
5.3.1.- Voluntarios	71
5.3.2.- Diseño experimental	71
5.3.3.- Cuantificación de la concentración de Hidrógeno	74
5.3.4.- Análisis estadístico	75
6.- Resultados y Discusión	77
6.1.- Estudios de fermentación colónica " <i>IN VITRO</i> "	77
6.1.1.- Producción total de ácidos grasos volátiles	77
6.1.2.- Producción total de ácidos grasos volátiles durante la fermentación y su relación con la composición química del sustrato	83
6.1.3.- Producción de cada uno de los ácidos grasos volátiles durante la fermentación	90
6.2.- Estudios de fermentación colónica " <i>IN VIVO</i> "	99
6.2.1.- Resultados del análisis	99
6.2.2.- Síntomas presentados durante la prueba de H ₂ espirado	111
7.- Conclusiones y recomendaciones	112
7.1.- Conclusiones	112
7.2.- Recomendaciones	113
8.- Bibliografía	115

1.- INTRODUCCION

Las propiedades funcionales de la fibra dietética son numerosas y su consumo se asocia con la protección contra enfermedades crónicas degenerativas como diabetes, enfermedad cardiovascular y cáncer de colon entre otras (1). Se ha demostrado que fibras dietéticas con diferentes propiedades fisicoquímicas producen efectos fisiológicos diferentes en el organismo.

Un informe reciente hace notar que el consumo de fibra en México tiene una gran variabilidad; en promedio la dieta rural contiene cuatro veces más fibra que la dieta urbana lo que tiene importantes implicaciones fisiológicas. Por otro lado, algunos autores relacionan la ingestión de altas cantidades de fibra dietética con efectos negativos en la biodisponibilidad de algunos nutrimentos principalmente hierro y calcio, lo cual es de especial importancia en México donde algunas dietas de tipo rural son limitadas en estos nutrimentos (2).

Aunque la forma más recomendable de lograr una dieta con adecuado contenido de fibra es mediante la inclusión de alimentos ricos en ella, hay una tendencia tanto en poblaciones rurales como urbanas, de disminuir su consumo, por lo que, en la clínica actual se recomienda comúnmente la ingestión de complementos ricos en fibra; debido a que éstos están formulados con fuentes de fibra muy diversas, no siempre dan el efecto fisiológico esperado, por lo que es importante el conocimiento de sus propiedades funcionales para anticipar, con una predicción aceptable, su efecto en el organismo (3).

La mayoría de los estudios tendientes al conocimiento de las propiedades funcionales de la fibra dietética han sido realizados en otros países, con características de población y patrones de alimentación diferentes a los de México. Es necesario estudiar fuentes de fibra dietética de fácil asequibilidad y bajo costo en México para hacer recomendaciones dirigidas a la población mexicana. De esta manera, se escogieron cinco fuentes de fibra dietética disponibles en el mercado mexicano para estudiar su fermentabilidad tanto "*IN VIVO*" como "*IN VITRO*".

2.- OBJETIVOS

DESARROLLAR UN ENSAYO "*IN VITRO*" PARA MEDIR LA PRODUCCION DE ACIDOS GRASOS VOLÁTILES (ACÉTICO, PROPIÓNICO Y BUTÍRICO) A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN DE DIFERENTES FUENTES DE FIBRA DIETETICA

MEDIR LA PRODUCCIÓN DE ACIDOS GRASOS VOLÁTILES "*IN VITRO*" A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN COLONICA DE DIFERENTES SUBSTRATOS

MEDIR LA PRODUCCION DE H_2 A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN COLONICA "*IN VIVO*" DE DIFERENTES FUENTES DE FIBRA DIETÉTICA

3.- HIPOTESIS

LA FERMENTABILIDAD DE UNA DETERMINADA FUENTE DE FIBRA
DIETÉTICA ES DEPENDIENTE DE SU COMPOSICIÓN
QUIMICA

4.-ANTECEDENTES

4.1- CONCEPTO DE FIBRA DIETETICA

En el pasado, la fibra dietética era considerada como un material inerte e indigerible, sin efectos aparentes en la nutrición humana (4);este concepto cambió radicalmente a través de los años.

Actualmente, en países industrializados se ha buscado incrementar las recomendaciones de fibra dietética debido a los beneficios que se ha visto que puede traer a la salud. Estas recomendaciones se dan, ya sea en cantidades absolutas (g de fibra por persona por día) o en función de la ingestión de energía (g de fibra por 1000kcal/día). En muchas de estas recomendaciones, la fibra se describe como "los componentes estructurales de las paredes celulares de los vegetales que son resistentes a las enzimas del tracto gastrointestinal humano" (1,3,5,7) lo cual es poco específico y se toma como una definición "aproximada". Para propósitos nutricios, esta definición de "fibra dietética" es obsoleta, y sería mucho más adecuado utilizar el término de " polisacáridos no amilaceos (PNA)+ lignina"(1). A excepción de la lignina, todos los constituyentes de la fibra son polisacáridos, y los recientes adelantos en la tecnología han permitido estimarlos con mayor precisión; algunos de ellos como gomas, pectinas y alginatos son utilizados ampliamente en la industria alimentaria como estabilizadores y emulsificantes. La lignina se define químicamente como un grupo de compuestos polifenólicos con amplias variaciones en su peso molecular que contribuye a la rigidez de la pared celular de las plantas; su inclusión en la definición de fibra es un legado de la nutrición animal y en la dieta humana aparece en menos del 0.2 g/100g.

La principal dificultad para el estudio de la fibra es su medición, por su gran variedad de estructuras y composiciones. La definición tradicional parece

énfatizar propiedades negativas de la fibra, en lugar de su papel positivo como protectora contra enfermedades; además, resulta inapropiado definirla según los efectos que tenga en el organismo humano (7).

Aún hay controversia entre si deben o no incluirse los almidones resistentes (AR) en este término (6). Se ha comprobado que los AR tienen características físicas muy parecidas a las fibras insolubles, como la celulosa (8,9); los AR son almidones presentes en alimentos - como las papas y el trigo - que resisten a la acción de las enzimas digestivas, dependiendo del tipo de almidón y del proceso de cocción que haya tenido (10).

Hay tres tipos de AR:

- ◇ Tipo I: es almidón físicamente inaccesible a las enzimas hidrolíticas, se encuentra presente en algunos granos y leguminosas.
- ◇ Tipo II: almidón que se encuentra en gránulos que no están gelatinizados y por lo tanto son altamente resistentes a la amilasa, como en la papa cruda y el plátano.
- ◇ Tipo III: almidón con amilosa retrogradada (11).

Los polisacáridos no amilaceos (PNA) pueden subdividirse en:

- Celulosa

La celulosa es un homoglucano formado por cadenas lineales de (1 → 4)- D-glicopiranosil. Aunque es poco degradada en el colon humano, la fuente de la que provenga tiene un efecto claro en su digestibilidad; la celulosa proveniente del salvado de trigo es mucho menos digerida que la proveniente de frutas y verduras, también se ha visto que su degradación depende del grado de cristalinidad y de asociación con otras sustancias, como la lignina, la cutina y la sílice. Debido a que es insoluble en agua, su grado de digestión depende del área de superficie que tenga disponible para la acción de las enzimas bacterianas, esto depende a su vez del tamaño de la partícula (7,12).

- Polisacáridos no celulósicos:

Los polisacáridos no celulósicos son degradados ampliamente en el colon (4); en contraste con la celulosa, la variación en digestibilidad es mucho menor debido a que su digestión en el colon es casi de un 80-90%; esta mejor digestibilidad se debe a su estructura amorfa, la pérdida de cristalinidad y a su solubilidad (7).

Hemicelulosas: Su esqueleto está formado de Xilano compuesto por $(1 \rightarrow 4) -\beta - D$ -xilopiranosilo con cadenas laterales de $\beta - L$ -arabinofuranosilo unidas a la posición 3 de algunas unidades de D-xilosa. Su hidrólisis produce pentosas, ácido glucurónico y algunas formas desoxi de azúcares (12).

Pectinas: Son polímeros compuestos principalmente de unidades $(1 \rightarrow 4) -\alpha - D$ -galacturonicopiranosil, y se encuentran en las laminillas intermedias de las células vegetales. Contribuyen al desarrollo de la textura deseable que se produce en los frutos durante la maduración. Su propiedad principal es la capacidad de formar geles fuertes (12).

Gomas: Hay tres tipos de gomas:

De origen vegetal: galactomananos de semillas de guar y de algaborro.

De origen marino: agar, carragenanos y alginatos

De origen microbiano: Dextrano y Xantano. Todos ellos muy utilizados en la tecnología de alimentos por su capacidad de incrementar la viscosidad y/o formar geles (12,13).

El principal problema para la investigación de la fibra dietética ha sido la evolución de los métodos existentes para su análisis (14).

Existen diferentes métodos para la medición de fibra dietética en los alimentos; el método utilizado por la AOAC es enzimático-gravimétrico y en él se mide la fibra dietética como la parte de la dieta que resiste a las enzimas digestivas humanas; este método incluye en su definición al almidón que resiste a la acción

de la amilasa pancreática, por lo que se sobrestima la cantidad de fibra dietética contenida en el alimento, además de que la cantidad medida por este procedimiento dependería del proceso al que el alimento ha sido sometido, ya que la formación de almidón resistente (AR) en los alimentos es influido por el pH, el contenido de agua, la temperatura y el tiempo de congelación, desecación, cocción, etc. por lo que, para un mismo alimento, puede haber diferentes valores de fibra dietética; esto permitiría a los químicos en alimentos manipular los resultados de contenido de fibra de los mismos. Además dificultaría la creación de tablas de contenido de fibra dietética en alimentos.

Alternativamente, aparece el método enzimático-químico, que mide la fibra en términos de sus constituyentes químicos. El método de Englyst elimina completamente el almidón del alimento por medio de enzimas y el contenido de PNA se mide como la suma de sus azúcares constituyentes separados por hidrólisis ácida; los azúcares pueden ser medidos por colorimetría o por HPLC. Los valores encontrados por este método no se afectan por el proceso que ha seguido el alimento (4,14).

La lignina no está incluida dentro de la definición de PNA, ya que no es un hidrato de carbono; su contribución en la dieta es mínima pues solamente se encuentra en cantidades detectables en algunos cereales enteros. La lignina debería ser medida separadamente y considerada como otro constituyente de las paredes de las plantas, como el sílice, la cutina, etc.(4) Una importante propiedad de la lignina es su capacidad para inhibir la degradación de los hidratos de carbono de la pared celular. Los alimentos que presentan mayor grado de lignización, como el salvado de trigo, son degradados muy pobremente en el colon (7).

Los efectos que la ingestión de fibra dietética tiene en el organismo se han estudiado utilizando fibra en cuatro formas diferentes:

- 1) utilizando polímeros purificados (pectina, celulosa, etc).

La estructura del complejo polimérico de las fibras de la pared celular de las plantas se altera inevitablemente cuando se purifica o aísla un polímero lo que afecta significativamente sus propiedades químicas, por lo que al utilizar estos polímeros purificados es casi imposible extrapolar los resultados obtenidos a los efectos que se tendrían al consumirse alimentos enteros ricos en fibra, en los que los polímeros se encuentran combinados con otros compuestos como proteínas y grasas, que también pueden presentar efectos sobre el colon. Sin embargo, es importante su estudio, ya que muchos de ellos son fácilmente asequibles y utilizados en la práctica médica, o como aditivos en los alimentos (15, 16).

2) utilizando concentrados de fibra (salvado de trigo, psillum plántago, nopal deshidratado, etc):

Los concentrados de fibra son porciones del alimento que se extraen sin utilizar ningún proceso químico que pueda alterar su estado original, generalmente se separan de la porción digerible del alimento. Existe gran variabilidad en los efectos que se han estudiado con estos concentrados. Por ejemplo, los granos de salvado tienen gran variación en la cantidad presente de germen, endospermo, etc. presentes, estas capas tienen muchas sustancias fisiológicamente activas. Muchos de los resultados contradictorios que se encuentran en la literatura se deben a estas diferencias.

3) usando alimentos naturales o preparaciones con alto contenido de fibra (panes integrales, frijol, etc):

La investigación se vuelve más compleja al tratarse de alimentos enteros, pues estos alimentos además de su alto contenido de fibra tienen muchos otros compuestos biológicamente activos; además, estos alimentos no solamente añaden fibra a la dieta, sino también proteínas y grasas. Se ha demostrado el efecto hipocolesterolémico de algunos esteroides de las plantas y estos se encuentran en casi todas las plantas no refinadas, los tocotrienoles que se encuentran en las fracciones lípidas de las plantas, las saponinas y los ac. grasos W-3.

Otro factor importante a tomar en cuenta es la presencia de AR ya que el efecto protector de algunas dietas ricas en fibra dietética puede deberse a este tipo de almidón.

Cuando se adicionan alimentos altos en fibra a la dieta se reduce la ingestión de otros alimentos más que si se utilizan fibras purificadas; se sustituyen grasas y proteínas de origen animal por las de origen vegetal, lo que también ocasiona cambios metabólicos, que han sido causa de muchos debates en los estudios realizados. Por lo contrario, si se utiliza un concentrado de fibra o una fibra purificada no hay mayor cambio en este sentido, pues la dieta no tiene porqué ser alterada.

4) Alimentos adicionados con una fibra purificada (15).

4.2 PROPIEDADES FISICAS DE LA FIBRA DIETETICA

La fibra dietética afecta el tracto digestivo en forma diferente, dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas. Aún más, se puede predecir su potencial biológico mediante el conocimiento de estas propiedades (3).

Los análisis químicos cuantitativos que miden el contenido de fibra de diferentes alimentos no pueden predecir su acción biológica, ya que ésta depende principalmente de sus propiedades físicas, y estas no están relacionadas ni simple ni directamente con su composición química. Estos polisacáridos presentan un amplio espectro de propiedades físicas, dependiendo de su naturaleza y la extensión de sus asociaciones intermoleculares. En un extremo, las cadenas poliméricas pueden estar empacadas ordenadamente, como en las fibras celulósicas, que son casi totalmente resistentes a la hidratación, aumento de volumen y ataque enzimático, y por el otro extremo, existir en solución cadenas desordenadas interactuando unas con otras solamente por enlaces físicos y estar accesibles al ataque enzimático; entre estos extremos se encuentran la mayoría de los tejidos vegetales típicos y los productos manufacturados utilizados como fibra dietética.

Las redes de polisacáridos están formadas por segmentos ordenados de cadenas, como en las fibras insolubles, pero tienen interconectadas secuencias desordenadas en solución, que promueven la hidratación y la hinchazón, las partes ordenadas se encuentran estabilizadas por enlaces no covalentes (enlaces de hidrógeno, atracción electrostática, interacciones dipolares y atracciones de Van der Waals). Ya que los enlaces son débiles, la cadena es estable solamente en poca longitud y puede romperse por cambios pequeños en temperatura, calidad del disolvente, etc. Debido a que se requiere un orden de asociación, las propiedades de las redes de polisacáridos específicos son altamente dependientes de lo que sucede a lo largo de la cadena polimérica;

polisacáridos con carga, como la pectina, son altamente sensibles al pH y al ambiente iónico, por lo que la estructura de la red se pierde o se forma según las condiciones que prevalecen en el momento en el tracto gastrointestinal; además, "en vivo" pueden ser afectadas por otros factores, como la presencia de ácidos biliares, reacciones con proteínas o los productos formados por las reacciones de Maillard durante la cocción o el procesamiento del alimento.

A niveles altos de organización estructural, las propiedades físicas y la acción fisiológica de la fibra dietética dependen de la integridad de la pared celular de la planta, que puede ser más estable gracias a los enlaces covalentes asociados con la lignificación, ya que una de las principales propiedades funcionales de esta pared es proveer una matriz insoluble donde queden atrapados los nutrimentos. El grado en que esta pared este intacta depende del procesamiento que haya tenido el alimento; muchos constituyentes de esta pared, como las hemicelulosas y las pectinas, son solubles en agua después de un proceso de extracción, pero esta solubilidad se enmascara si la pared permanece intacta.

Las propiedades físicas que influyen en la función del tracto gastrointestinal, son la combinación de las propiedades reológicas y coligativas de los componentes de la fibra soluble en agua, las propiedades de la superficie de los componentes insolubles y las de la red de los componentes hidratados y solvatados, que incluyen :

Viscosidad: Esta se encuentra relacionada con la capacidad de absorción de agua, todos los polisacáridos solubles en agua forman las soluciones viscosas, por su gran tamaño molecular. La viscosidad a la vez depende del tamaño molecular, el volumen, la estructura, las cargas eléctricas y la facilidad de deformación, características que pueden modificarse por factores ambientales como el pH, la fuerza iónica y la temperatura.

Retención de agua: Cada una de las unidades de hexosas y pentosas que forman los polisacáridos posee varios lugares capaces de formar puentes de hidrógeno; así, en un glucano hay cinco oxígenos por unidad que tienen esa capacidad. Cada oxígeno o hidrógeno de un grupo hidroxilo puede unirse potencialmente a una molécula de agua, es decir, cada unidad es capaz teóricamente de estar totalmente solvatada. En algunos disminuye esta capacidad porque el agua no tiene acceso a formar puentes de hidrógeno, como sucede en aquellos con estructura regular y ordenada (zonas cristalinas).

Intercambio de cationes: Algunos polisacáridos tienen la capacidad de quelar minerales y en consecuencia influir en la absorción de los mismos; este efecto se ha visto con hierro, zinc y calcio. Por ejemplo, la pectina liga fácilmente iones de calcio y otros electrolitos debido a la presencia de grupos carboxilos en su estructura; el hierro y el zinc, son atrapados por fuentes de fibra que tengan presente también ácido fítico.

Adsorción de ácidos orgánicos: La fibra dietética puede atrapar en su red tridimensional algunos ácidos orgánicos, tal es el caso de los ácidos biliares que son atrapados por el polisacárido complejo lo que tiene algunas implicaciones importantes en la absorción de lípidos.

Gelificación: Los polisacáridos forman estructuras de red tridimensionales con gran cantidad de moléculas de agua unidas a las zonas no cristalinas del mismo, lo que da lugar a una estructura llamada gel (3,6,12).

4.3 EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA FIBRA DIETÉTICA

El incremento en el consumo de fibra dietética ha sido ampliamente asociado con algunos efectos benéficos en la prevención de ciertas enfermedades (17) y especialmente, en el metabolismo de los lípidos e hidratos de carbono, posiblemente también en la hemostasia; se han propuesto varios mecanismos para explicar estos efectos. La fibra dietética influye en la secreción, digestión, absorción y fermentación así como en la estructura morfológica del tracto gastrointestinal y el tiempo de tránsito de los alimentos a través del tracto digestivo; esto puede a su vez ocasionar cambios en la concentración de los nutrientes en la sangre y en las respuestas endocrinológicas, ya que estas son influidas por los substratos disponibles en las células (18).

Los diferentes tipos de fibra dietética presentan diferentes procesos digestivos y de absorción en el tracto gastrointestinal, por lo que no se debe agrupar a este tipo de polisacáridos juntos, ya que esto causaría confusiones en la evaluación epidemiológica de sus efectos (19).

La magnitud de los cambios que ocasionan en el organismo depende además de la fuente y de la composición física y química de la fibra utilizada, de la respuesta individual de los sujetos (20). La diferencia en la respuesta individual a la misma fuente de fibra puede estar relacionada con las características de las bacterias colónicas, así como otros factores: la edad, el estilo de vida, el estrés, el sexo, etc. Por ejemplo, las mujeres tienen mayores tiempos de tránsito intestinal que los hombres, lo cual determina también la respuesta individual a la fibra. Se ha encontrado que las mujeres tienen mayor propensión a sufrir constipación y tienen también mayor riesgo de padecer cáncer de colon, sobre todo después de los 50 años (16,21).

Las enfermedades del colon son más comunes en personas con defecación escasa, y con tiempos largos de tránsito intestinal; la salud de la flora colónica

es importante para determinar la susceptibilidad de los individuos a estas enfermedades (22).

La fibra dietética puede actuar en el intestino delgado en tres formas físicas diferentes: Como una cadena de polímeros solubles en solución, como macromoléculas insolubles congregadas y como redes hidratadas en forma de geles. Aunque algunos componentes de la fibra, como la celulosa, son inherentemente insolubles, otros pueden cambiar su forma física con el tiempo, con la agitación debida a los movimientos peristálticos y por las condiciones físicas a lo largo del tracto gastrointestinal; estos cambios van normalmente en dirección a incrementar la solubilidad de fibras inicialmente insolubles, que después se hidratan y finalmente se disuelven; sin embargo, algunos componentes de los polisacáridos, particularmente aquellos con carga, como la pectina, pueden encontrar condiciones en el lumen que inviertan el proceso de hidratación (cambios en pH, reducción en la calidad del disolvente por pequeños cosolutos, o coacervación con proteínas). Así, componentes solubles de la fibra se encontrarían en una solución en fase continua mientras que, aquellos más insolubles se encontrarían dispersos en forma discontinua. Otras propiedades físicas, como la viscosidad, presentan combinaciones tan complejas que hace muy difícil predecir la conducta que seguirán las diferentes fases aisladas.

Es necesario establecer claramente la relación entre los polisacáridos no amiláceos (PNA) y la función colónica, ya sea directamente o a través de los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que se producen durante su fermentación; principalmente la contribución de los AGCC a los requerimientos de energía necesita ser cuantificada. La interacción entre PNA solubles e insolubles y otros componentes de la dieta en la producción de AGCC necesita mayor estudio (1,23).

Otro factor importante a tomar en cuenta para predecir los posibles efectos fisiológicos de la fibra dietética es el tiempo de retención colónica de la misma,

especialmente si se habla de fibras altamente fermentables, pues a mayor tiempo de retención mayor producción de AGCC (24).

Los efectos de la fibra dietética en el colon pueden sumarse en términos de su susceptibilidad a la fermentación microbiana, su capacidad de incrementar la masa fecal, su capacidad para incrementar la actividad de enzimas sacarolíticas bacterianas y capacidad de retención de agua que tienen los residuos de fibra no fermentados (6). En la tabla 1 se resumen estos efectos:

TABLA 1

EFFECTOS DE LA FIBRA DIETÉTICA EN EL TRACTO DIGESTIVO

<ul style="list-style-type: none"> ◆ Absorción de sustancias orgánicas e inorgánicas <ul style="list-style-type: none"> ◆ Incremento del peso fecal ◆ Incremento de la frecuencia de la defecación ◆ Cambios en el tiempo de tránsito intestinal <ul style="list-style-type: none"> ◆ Dilución del contenido colónico ◆ Estimulación del crecimiento de la flora colónica ◆ Reducción de la deshidroxilación de los ácidos biliares ◆ Producción de ácidos grasos de cadena corta, H₂, CH₄ y CO₂ <p>(16)</p>

Los principales cambios que puede provocar la fibra dietética en el organismo son los siguientes:

4.3.1. ABSORCIÓN DE SUBSTANCIAS ORGÁNICAS E INORGÁNICAS:

El principal efecto de la fibra dietética en el intestino es la reducción de la tasa de liberación de nutrientes, ya sea atrapándolos físicamente entre su congregación de estructura o aumentando la viscosidad, que restringe el proceso de mezcla que llevan a cabo los movimientos peristálticos y que promueve el contacto de enzimas con sus sustratos, las sales biliares con la grasa aun no micelada y los nutrientes solubles con la pared celular. La velocidad con que son liberados los nutrientes de las partículas fibrosas al fluido intestinal es inversamente proporcional al tamaño de estas partículas y directamente proporcional al gradiente del soluto.

Muchos PNA solubles forman geles o soluciones viscosas en agua - características ampliamente explotadas por la tecnología de alimentos- al encontrarse estos PNA solubles presentes en el contenido gástrico le confieren viscosidad, ésta es dependiente del número de cadenas presentes, así como de su tamaño (volumen hidrodinámico) pero no de su composición química; otros polímeros de la dieta y algunos liberados del epitelio, pueden contribuir de la misma forma a la viscosidad; ya que ésta es altamente sensible a los cambios que suceden en el tracto digestivo, es casi imposible predecir su acción fisiológica "*in vitro*"(6). En el intestino delgado, las fibras viscosas, retrasan la absorción de algunos nutrientes -entre estos la glucosa- reduciendo la respuesta glicémica posprandial a los alimentos; estas fibras viscosas pueden influir en la morfología y función intestinales, se ha observado la reducción en la tasa de reposición de células epiteliales con la ingestión de fibras insolubles, mientras que las fibras solubles aumentan esta tasa en el colon proximal.

En estudios "*in vitro*" se ha visto que la fibra puede reducir directamente la actividad de enzimas pancreáticas, e "*in vivo*" reduce la absorción de hidratos de carbono (25).

Es importante hacer notar que las fibras viscosas causan un retraso en la absorción de los nutrimentos, pero no una mala absorción de los mismos, se ha mencionado que una posible desventaja de la suplementación con fibra es la interacción que puede presentar con metales y minerales, pero en estudios recientemente realizados se comprobó que fibras como el glucomanan no afectan la absorción de hierro, magnesio, calcio o zinc, aunque sí podrían llegar a afectar la absorción de algunas vitaminas liposolubles cuando se toman grandes cantidades de la fibra; también se ha observado que fibras como la celulosa se une a varios iones, entre ellos el calcio y que la lignina atrapa ácidos biliares, es necesario realizar más estudios para ver los efectos de la suplementación de estas fibras a largo plazo (17, 25, 26).

4.3.2.-METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO:

Se han demostrado los efectos de la fibra soluble en algunas enzimas clave en el metabolismo de lípidos e hidratos de carbono (18). Se ha observado disminución en la concentración de glucosa sanguínea con dietas altas en fibra soluble que se atribuye al retraso del tránsito gastrointestinal, y a la baja en la concentración de ácidos grasos libres (AGL) en la sangre, debida a los productos de la fermentación de la fibra en el colon(27).

En estudios "*in vitro*" se demostró una clara separación entre los efectos de fibras solubles e insolubles sobre el retraso de la difusión de la glucosa a través de la membrana de diálisis, siendo las solubles siempre las que retardaban más esta difusión (28).

La suplementación con goma guar y con glucomanan baja la concentración post-pandrial de insulina, siendo el glucomanan más efectivo para mejorar la tolerancia a la glucosa; hay una gran variedad de mecanismos que están relacionados con la mejora en la tolerancia a la glucosa que se observa con la suplementación con fibra dietética (29). Muchos de los efectos de las fibras dietéticas dependen de la cantidad de fibra ingerida, también de su proporción y su estado físico (7).

Así, si se va a utilizar terapéuticamente la fibra para ayudar a mejorar la respuesta glicémica post-prandial, será necesario especificar el tipo de polisacárido que se utilizará en la dieta (19).

Se piensa que la acción de los PNA en el control de la glicemia se lleva a cabo en gran parte gracias a sus propiedades físicas en solución y este efecto de reducción de glicemia se atribuye principalmente a su viscosidad; tanto el tipo y contenido de fibra como la estructura del alimento en que se encuentra pueden influir en la respuesta glicémica; por ejemplo, aunque la papa tiene mayor cantidad de PNA que el arroz, este produce una respuesta glicémica más baja, lo cual puede deberse a la estructura del arroz, que reduce la disponibilidad del almidón a la amilasa, por lo que no necesariamente el contenido de fibra refleja el impacto de algún alimento en particular en la respuesta glicémica. También la forma física en que se encuentra el alimento afecta esta respuesta, por ejemplo si el salvado se encuentra en granos burdos o finos. Las fibras solubles tienen efectos más pronunciados en la reducción de glucosa sanguínea (30). Se ha establecido que PNA con estructuras similares poseen efectos similares en el tracto digestivo; así, se ha visto que fibras con mayor viscosidad que otras, retrasan más la respuesta glicémica que las menos viscosas (9).

4.3.3.- CAMBIOS EN EL VACIAMIENTO GASTRICO:

En algunos estudios se ha demostrado que las fibras dietéticas solubles prolongan el tiempo de vaciamiento gástrico; en cambio las fibras insolubles lo aceleran (5).

Se ha visto que fibras dietéticas como glucomanan y goma guar, que tienen estructura similar y la habilidad de formar soluciones altamente viscosas, tienen diversos efectos en secreción de hormonas del colon y alargan el tiempo de vaciamiento gástrico (29).

4.3.4.- AUMENTO DE PESO DEL CONTENIDO GASTROINTESTINAL:

En el estómago y el intestino delgado, la fibra dietética aumenta el contenido gastrointestinal, provocando un efecto de saciedad y retardando la digestión (1). Debido a la forma física compacta que adquieren las partículas insolubles de la fibra, éstas contribuyen en mucho menor grado a la viscosidad del contenido digestivo que fibras solubles en agua; sin embargo, la viscosidad en general es influida por los dos tipos de fibra, y depende también del contenido de agua en el tracto digestivo (6).

El aumento en el bolo intestinal se atribuye a varios posibles factores, incluyendo el aumento en la entrada al intestino grueso de alimentos no digeridos, propiedades de retención de agua de la fibra dietética e incremento en la masa bacteriana (31). Este efecto explica el alivio a muchos tipos de constipación, que es uno de los efectos de la fibra que mejor se encuentran documentados: los productos altos en fibra insoluble - como el salvado de trigo - han sido utilizados amplia y exitosamente como laxantes (1,32). Las heces son un complejo que normalmente consiste en un 75% de agua y el resto es materia seca compuesta por las paredes celulares de algunas bacterias y residuo que consiste en fibra no fermentada y los compuestos excretados que incluyen ácidos biliares, esteroides, grasa, electrolitos y algunos productos de la fermentación bacteriana (AGCC). De los constituyentes de la dieta, solamente la fibra dietética influye en el peso de las evacuaciones. El principal mecanismo por medio del cual la fibra incrementa el peso de heces es a través de la capacidad de retención de agua de la fibra no fermentada. También influye el tiempo de tránsito en el colon. Las fibras insolubles tienen mayor efecto a este respecto. El contenido de pentosanos, que son complejos con lignina, tiene un efecto determinante en el aumento de esta masa, pues son estos quienes muchas veces hacen a la fibra resistente a la fermentación y por lo tanto tienen el efecto de

aumentar el volumen. El tiempo de tránsito intestinal se reduce en proporción al incremento en la masa fecal (16,22,25).

Diversos autores informan la capacidad de retención de agua de la fibra "*in vitro*"; esta depende en parte de la formación de geles por los polisacáridos y en parte de la estructura celular de la misma. Han surgido problemas al tratar de relacionar estos resultados "*in vitro*" con los efectos de la fibra "*in vivo*". Se ha visto que mientras más agua atrapa la fibra "*in vitro*" es menos efectiva su capacidad de aumento de masa fecal; esto se demostró en estudios hechos con salvado y pectina, el primero presentó poca capacidad de retención de agua pero tiene gran capacidad de aumento de masa fecal y lo contrario sucedió con la pectina. Además, el principal argumento en contra de que el aumento de masa se debe a la capacidad de retención de agua de la fibra es que virtualmente casi toda esta fibra es digerida en el colon (1,16,28).

El incremento en la excreción de ácidos biliares, esteroides neutrales, nitrógeno, grasa, minerales y electrolitos que se ha encontrado en diversos estudios, se ha atribuido a los efectos físicos de la fibra por sí misma; actualmente se piensa que podría haber otras explicaciones a estos cambios, como por ejemplo el incremento de la masa bacteriana (22).

La forma física en que se encuentra la fibra también influye en sus efectos en el colon. Se ha demostrado que algunas propiedades importantes de la fibra dependen de su forma, tamaño, textura y relación espacial; un ejemplo claro de esto es el efecto del tamaño de partícula del salvado, pues las partículas toscas son más efectivas para incrementar la masa fecal que las más finas, ya que permanecen mas tiempo en el colon y retienen agua en virtud de su estructura celular (16,19,33).

4.3.5.- EFECTO HIPOCOLESTEROLEMICO:

La hipercolesterolemia se considera generalmente como un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares. La fibra reduce los niveles basales de colesterol después de un periodo largo de ingestión continua: después de un periodo de 6 meses de consumo de una dieta alta en fibra se encontró una reducción en la concentración de colesterol en LBD y en la proporción de LBD/LAD (30).

Se han encontrado diferencias entre los efectos de las fibras insolubles y de las solubles en agua. Por ejemplo, como se mencionó, las fibras insolubles son eficientes para incrementar masa fecal, como laxantes, y también reducen el tiempo de tránsito intestinal (25, 32, 34) pero sus efectos en el colesterol plasmático no se han comprobado hasta el momento; en cambio, en estudios realizados con productos con alta concentración de fibra soluble como la cebada y avena se comprobó el efecto hipocolesterolémico de la misma (20).

El efecto reductor de colesterol de los PNA solubles puede deberse a dos mecanismos: Incremento en la excreción de lípidos y alteraciones en la absorción de grasa. La forma en que esto sucede aún no es clara; aunque se piensa que los PNA son secuestrantes naturales de ácidos biliares, el mecanismo por medio del cual esto se lleva a cabo aún no está suficientemente documentado. Sin embargo, se ha comprobado la disminución de la concentración de ácidos biliares en el suero con el respectivo aumento de su concentración en heces. Los ácidos biliares que secuestra la fibra son necesarios para la formación de las micelas de los lípidos, lo que incrementa la pérdida fecal de los mismos. Parece ser que la viscosidad que le confiere la fibra a la masa fecal interfiere también con la digestión de las grasas (23,6,17). Otro mecanismo propuesto se atribuye a los AGCC producidos durante la fermentación de la fibra en el colon (28, 35, 36).

4.3.6.- FIBRA COMO PARTE DEL TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES:

Los diversos y a veces opuestos efectos que tienen los diferentes tipos de fibra a lo largo del tracto gastrointestinal han hecho de la misma una herramienta útil para explorar la función gastrointestinal y para el tratamiento de diversas enfermedades :

Diabetes mellitus:

La dieta es una de las principales herramientas en el tratamiento de la diabetes. El tratamiento dietético del diabético debe asegurar el peso teórico con una normoglicemia y normolipidemia, para lo cual se sugiere una dieta alta en almidones y fibra; por ejemplo: James W & A. Abayomi lograron reducir los requerimientos de insulina hasta un 30-40% en pacientes insulino dependientes y 75-100% en los no insulino dependientes con una dieta con 55-60% de hidratos de carbono, 12-16% de proteínas, <30% de grasa y 40 g/día de fibra tanto soluble como insoluble (aprox. 15-25g/1000 kcal). Además, se ha demostrado también el aumento de la sensibilidad de los tejidos a la insulina y la reducción del colesterol plasmático hasta en un 30%, aunque parece ser que las fibras solubles son más efectivas a este respecto (1, 17, 36).

También se ha comprobado una reducción significativa de peso en pacientes diabéticos obesos suplementados con PNA solubles (17). Aunque esta disminución se atribuye principalmente al reemplazo de otros glúcidos mas disponibles por la fibra y al efecto de saciedad que provoca el aumento del contenido gástrico (32) este reemplazo también influye en la respuesta glicémica (21). Se sugiere que estas observaciones pueden ser mediadas por los efectos que tiene en la secreción de las hormonas del intestino, especialmente el enteroglucagón, un polipéptido gastroinhibitorio y la somatostatina, hormonas que pueden reducir la utilización del substrato disponible para la digestión (26). En México, una fuente natural de fibra dietética es el nopal, su utilización en el tratamiento de pacientes diabéticos mejora el control glicémico de los mismos al igual que otras fibras hidrosolubles (5).

En experimentos a corto plazo con fibra dietética se encontró la reducción de la respuesta postprandial a la glucosa gracias a la fibra. A largo plazo se encontraron también concentraciones menores de glucosa y colesterol plasmático. Así se afirma que pacientes con dietas altas en fibra incrementan la tolerancia a hidratos de carbono. La alta frecuencia de complicaciones arteroescleróticas en pacientes diabéticos se reducen a largo plazo con dietas ricas en fibra (30).

Cáncer de colon:

Algunos estudios epidemiológicos han demostrado efectos protectores de la fibra contra el desarrollo de cáncer de colon, aunque la explicación de estos efectos es complicada ya que diferentes tipos de fibra tiene diferentes mecanismos. Esta protección se atribuye principalmente a los productos obtenidos como resultado de su fermentación en el colon, otros mecanismos propuestos son el atrapamiento y la dilución de sustancias carcinogénicas; por ejemplo: las fibras que forman geles pueden ligar ácidos biliares secundarios (desoxicólico y litocólico) - conocidos por sus efectos promotores de tumores en colon - aumentando la carga colónica de los mismos (1,10,11,37,38).

Úlcera duodenal:

En la úlcera duodenal, se han utilizado diferentes tipos de fibra con éxito ya que, aunque la fibra recomendada en este caso es la que aumenta el vaciamiento gástrico, como el salvado, parece que también son útiles las que ligan ácidos biliares, como las viscosas (25).

Colitis ulcerativa:

En la colitis ulcerativa se ha encontrado mejoría en los síntomas, en la apariencia endoscópica y en la histología intestinal después del tratamiento con enemas de AGCC, especialmente butirato, por lo que se sugiere que el consumo de fibras altamente fermentables puede ser de utilidad para el tratamiento de esta enfermedad (39).

Síndrome de Dumping:

En el síndrome de Dumping, algunos tipos de fibras que retardan el vaciamiento gástrico (gomas, mucílagos y pectinas) reducen los aumentos bruscos de glucosa e insulina en sangre y la hemoconcentración asociada con este síndrome se minimiza. Además se han mostrado respuestas endócrinas más normales en el intestino grueso y menor pérdida de hidratos de carbono; a largo plazo, reducen algunos síntomas asociados. Sus efectos terapéuticos a largo plazo se relacionan con la alteración de algunos patrones de movilidad gastrointestinal.

Constipación:

En general, la constipación puede reducirse aumentando en la dieta el contenido de fibra dietética a través de granos enteros; esto se debe a la capacidad de incrementar la masa fecal y a la reducción del tránsito intestinal. Es importante tomar en cuenta la respuesta individual a la fibra, pues si por ejemplo se desea incrementar la masa fecal de un paciente con constipación, se necesitará mucho más fibra dietética para quien tiene respuesta baja a los efectos de la misma que para alguien que presenta respuestas altas(16).

Diarrea:

Las fibras solubles (como la goma guar) prolongan significativamente el tiempo de tránsito en el colon, lo que se correlaciona con un incremento de las concentraciones de colesistocinina, que afecta la movilidad colónica. Esto, además de la fermentación, promueve la absorción de agua y sodio por los colonocitos lo que previene, en cierta forma las evacuaciones líquidas. Se ha comprobado que los AGCC son importantes en la diarrea causada por gastroenteritis (40).

Enfermedad diverticular:

En el pasado, la enfermedad diverticular era tratada con dietas bajas en residuo; actualmente se recomienda lo contrario, pues ya que la fibra mantiene el volumen intraluminal, reduce el desarrollo de altas presiones intracolónicas; previniendo la formación de divertículos producidos a lo largo de las venas colónicas (25).

Excepto en la constipación, es necesario profundizar en los estudios tendientes a conocer más ampliamente el papel que lleva a cabo la fibra dietética en la prevención y el tratamiento de estas enfermedades (16). Se ha visto que la frecuencia de los efectos colaterales asociados con la fibra (diarrea, flatulencia, anorexia y dolor abdominal) puede reducirse si se incrementa gradualmente la ingestión de la misma. La mayoría de los pacientes dejan de presentar estos síntomas después de una semana de ingestión continua de fibra (26).

4.4.- FERMENTACION COLONICA

La fermentación colónica es el proceso por medio del cual, las bacterias anaeróbicas degradan diferentes substratos, principalmente hidratos de carbono, para obtener energía para su crecimiento y el mantenimiento de sus funciones celulares. La fermentación es un componente importante de la actividad del intestino grueso normal, su control depende principalmente de la cantidad y el tipo de substrato disponible para la flora, lo que a su vez determina la magnitud y la tasa de muchos fenómenos metabólicos en el cólon (4,41).

La función principal del intestino grueso es conservar el agua y los electrolitos secretados durante la digestión para mantener controlada la ruta de excreción de los productos de desecho del metabolismo y sustancias tóxicas y mantener protegidos a los microorganismos que por medio de la fermentación concluyen el proceso digestivo (42,43). Casi todas las bacterias presentes en el colon humano son obligadamente anaerobias - 99%- y la mayoría de ellas requieren la presencia de hidratos de carbono fermentables para su crecimiento (44). Los substratos que llegan al colon humano pueden ser en cierta forma regulados también por la composición de la dieta y por los procesos que siguen los alimentos antes de ser consumidos (4,45).

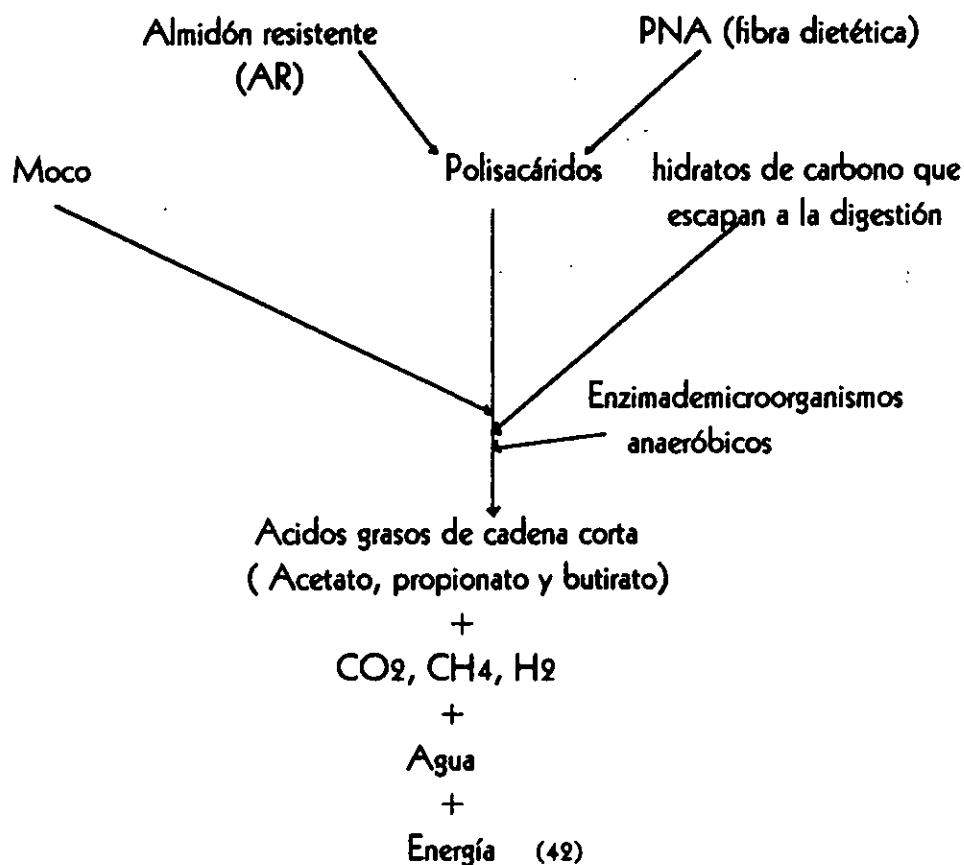
En el tracto gastrointestinal humano, los ácidos grasos volátiles (AGCC) acético, propiónico y butírico, se producen en grandes cantidades como resultado principal del catabolismo de hidratos de carbono llevado a cabo por las bacterias anaeróbicas presentes en el colon (31,46,47,48,49). Estudios recientes sobre la fermentación, han conducido a una redefinición de la misma; así podría decirse que la fermentación es el metabolismo en el que los compuestos orgánicos sirven a un tiempo como donadores y aceptores de electrones. De

esta manera, la proteólisis llevada a cabo por algunas bacterias colónicas se considera también como un tipo de fermentación donde ciertos aminoácidos sirven como donadores de electrones mientras otros sirven como aceptores. Por medio de este proceso obtienen también la energía que necesitan para su crecimiento (41,50).

El principal substrato para el metabolismo de las bacterias colónicas es la fibra dietética, y algunos almidones que escapan a la digestión (51). Otros substratos incluyen glucoproteínas y mucopolisacáridos. Se estima que la producción diaria de AGCC es de 200 a 300 mmol (18) con un potencial de 1-3 kcal/g de fibra (6,52) es decir que contribuyen con un 5-10 % al total de energía de la dieta (49,53), pero esto depende también del tipo de flora bacteriana presente en el intestino; hay fermentaciones acetogénicas (donde los gases se fijan como acetato), en las que hay mayor producción de AGCC, principalmente acetato y por lo tanto se obtiene mayor energía a partir de la fermentación, mientras que en fermentaciones metanogénicas, (donde se observa una reducción de CO_2 a CH_4) se produce mayor cantidad de gas y menos cantidad de AGCC y por lo tanto, se genera menos energía a partir de la fermentación (1).

El grado de degradación depende del tipo de PNA que contenga la fuente de fibra dietética; por ejemplo, la goma arábiga y las pectinas sufren una fermentación de aproximadamente un 100% mientras que la celulosa solamente se fermenta hasta en un 60% . La fibra dietética proveniente de frutas y verduras se degrada en el colon hasta en un 90% mientras que otras fibras provenientes de cereales se degradan aproximadamente 50% (23,53).

El siguiente esquema muestra la fermentación en el colon humano:

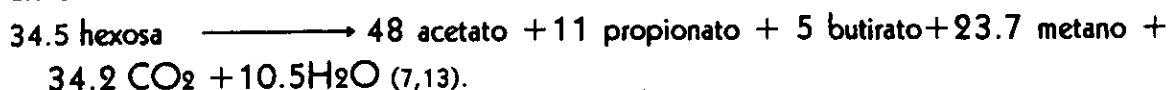


Los productos de esta degradación son normalmente similares en todos los casos: AGCC + gases (H_2 , CO_2 , CH_4) + aumento de masa fecal(1,46,54).

Se ha demostrado que la fuente de fibra dietética - que es el principal sustrato para la fermentación - afecta significativamente la tasa, la cantidad y el tipo de AGCC producidos (55); 30g de fibra dietética producen aproximadamente 200mmol de acetato y 90 mmol de propionato (56), aunque también se ha visto que la tasa de fermentación decrece con el aumento en el consumo de fibra (53).

La cantidad total de AGCC producidos es difícil de calcular, pues los AGCC excretados por heces son la minoría, ya que estos se absorben rápidamente a través del lumen; las tasas de absorción se han calculado en 6 a 12 mol/cm²/h, tasa que está directamente relacionada con la concentración inicial de los mismos. El mecanismo por el que se lleva a cabo este proceso aún es poco claro aunque parece ser por transporte iónico (57). En algunos estudios se han encontrado efectos diferentes; por ejemplo, Friedel, L. concluyó que la concentración de AGCC no afecta su tasa de absorción (58).

El rúmen y el colon humano son comparables metabólicamente; en base al conocimiento de ambos, se ha derivado la siguiente ecuación de la fermentación en el colon:



Los monosacáridos que componen la fibra dietética influyen en la proporción de AGCC producidos (48), en estudios realizados "in vitro", todos los monosacáridos y los derivados del ácido urónico produjeron acetato, algunos de ellos (L-ramnosa, D-arabinosa, D-Xilosa y D-galacturonato) también produjeron propionato; solamente algunos (D-sorbitol, D-galacturonato y D-glucuronato) produjeron butirato (13). La fermentación de AR se asocia altamente con la producción de ac. butírico (4), y la fermentación de lactosa y lactulosa con acetato (13).

La fermentación colónica incrementa el número de bacterias y forma nuevos substratos disponibles para la fermentación (59). La bioquímica de la fermentación es muy compleja; las primeras reacciones toman la vía Embden-Meyerhof para formar piruvato, pero a partir de aquí siguen diferentes rutas, dependiendo del tipo de enzimas que tienen las especies de microorganismos presentes. Se presentan como intermediarios de la fermentación: etanol, metanol, formato, lactato y succinato, los cuales no se encuentran en las heces pues son rápidamente metabolizados a sus productos finales, la producción de gases en la fermentación va acompañada algunas veces por

distensión abdominal y dolor (42). En la figura 1 se ilustran los principales pasos de la degradación y asimilación de hidratos de carbono en el colon. El AR, la celulosa y la hemicelulosa son degradados por las enzimas extracelulares bacterianas hasta hexosas y pentosas y el resto del metabolismo ocurre dentro de las células bacterianas; subsecuentemente se metabolizan hasta piruvato que rápidamente es transformado a los productos finales (57).

La figura 2 presenta un esquema general de la formación de los productos finales de la fermentación a partir del piruvato. El lactato es producido por la oxidación del NADH formado durante la glucólisis. La carboxilación del piruvato produce el oxaloacetato que es reducido a succinato, un precursor del propionato. La acetil co A puede ser convertida a acetato, butirato o etanol. El H₂ se forma también a partir del piruvato (60).

Aún hay mucho que estudiar sobre la regulación de la producción, la concentración y las proporciones de AGCC; se ha visto que algunas especies bacterianas presentan patrones específicos de AGCC lo que sugiere que las variaciones individuales en la flora colónica influyen en la proporción de AGCC producidos. Mc Burney encontró que la producción de AGCC era función del sustrato (59).

En la tabla 2 se resumen los principales sustratos para la fermentación. La mayoría de ellos contienen hidratos de carbono de alguna forma; las personas con deficiencia de galactosidasa son fermentadoras de lactosa, ya que la flora bacteriana tiene esta enzima en grandes cantidades. La degradación del moco colónico por la flora bacteriana ha sido bien documentada, añadiendo de 3 a 5 g de sustrato a la fermentación diaria (4). Las glucoproteínas contienen un 80% de hidratos de carbono y el colon humano contiene microorganismos capaces de degradar estas moléculas. Todo esto hace estimar aproximadamente 20 g/día de hidratos de carbono disponible para la fermentación colónica en una típica dieta occidental, pero esta puede llegar a ser hasta de 40g/día, dependiendo de la dieta y la producción individual de moco (42).

FIGURA 1

PRINCIPALES PASOS DE LA DEGRADACION Y ASIMILACION DE
HIDRATOS DE CARBONO EN EL COLON

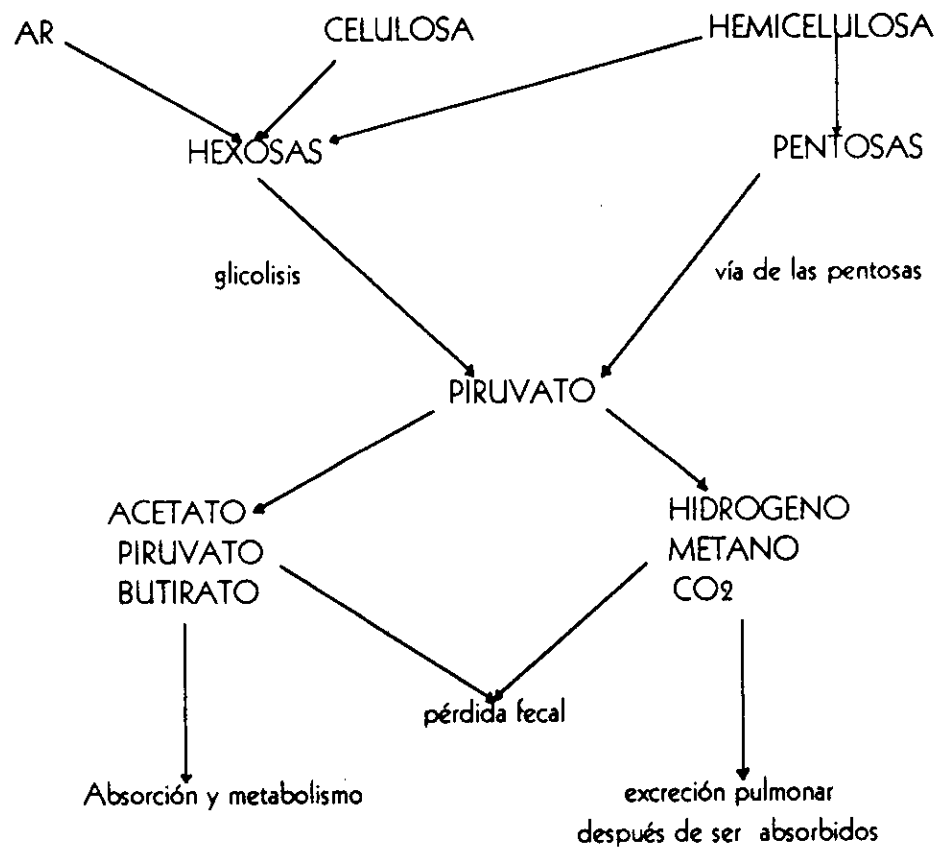


FIGURA 2
PRODUCTOS DE LA FERMENTACIÓN A PARTIR DEL
PIRUVATO

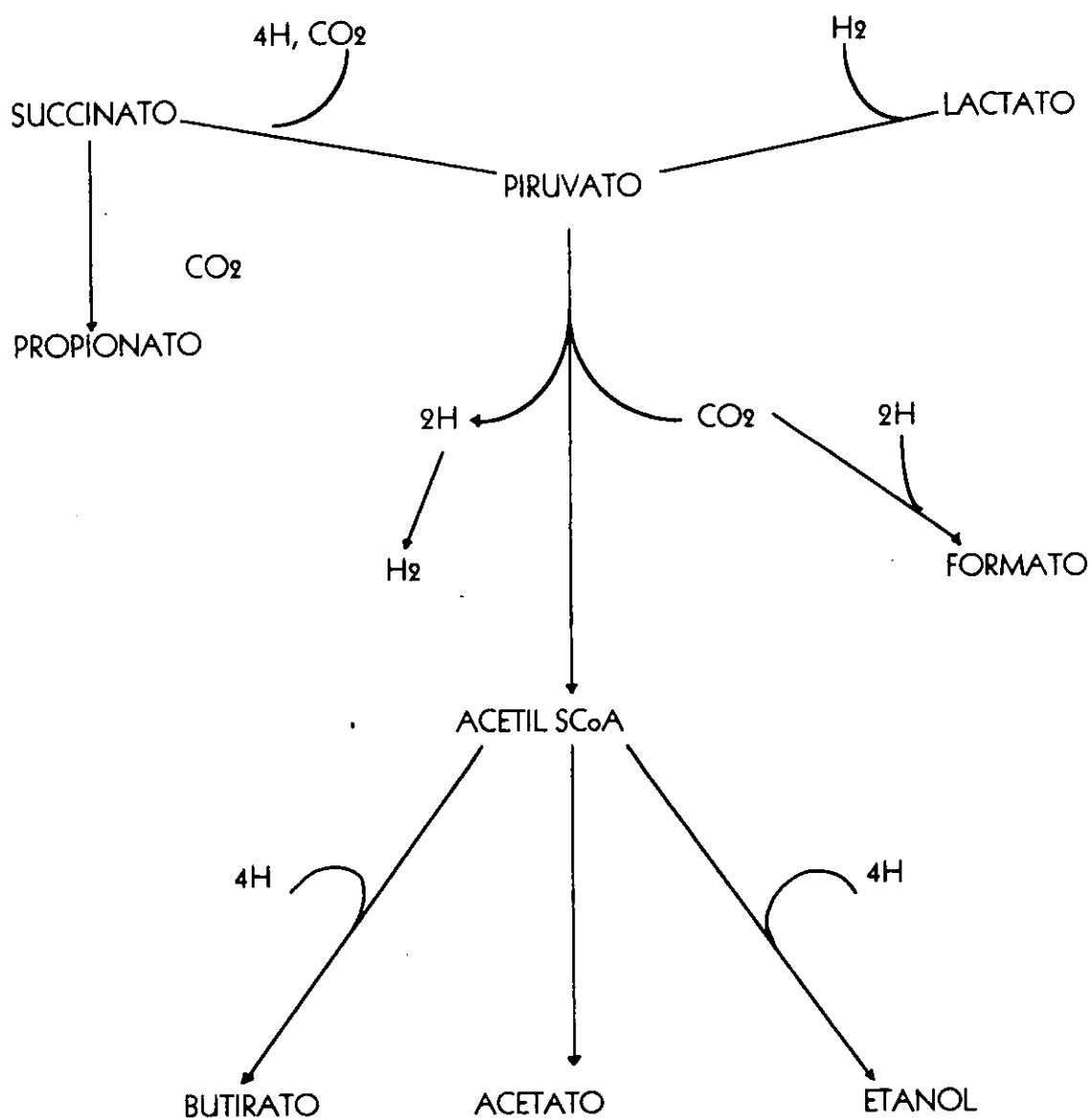


TABLA 2

POSIBLES SUSTRATOS PARA LA FERMENTACIÓN COLÓNICA**A. Hidratos de carbono**

Almidón
fibra dietética (PNA)
azúcares no absorbidos
rafinosa
polidextrosa

B. Proteínas

Dietética
Endógena

C. otros

Glicoproteínas intestinales
Mucopolisacáridos

(4)

En sujetos normales, se excreta un promedio de 15-20 g de bacterias (peso seco)/día; para generar 1g de bacteria se requieren aprox. 0.1mol de ATP (adenosintrifosfato), por lo que se ha calculado que se necesitan de 50 a 60 g de hidratos de carbono fermentables para la biosíntesis de la masa bacteriana excretada; muchos de estos hidratos de carbono probablemente provengan del moco colónico y del AR(53).

Los residuos de los alimentos pasan de 18 a 68 h. en el intestino grueso lo que determina el tiempo de digestión de los mismos (7,61). La producción de AGCC, está relacionada con la digestibilidad de la fibra y esta a su vez con la solubilidad: las fibras más solubles se fermentan más; otro factor importante es el tiempo de tránsito de la fibra en el cólon, a mayor tiempo, hay mayor fermentación y además parece ser que la dosis de la fibra también influye en su fermentabilidad, pequeñas cantidades de fibra son fermentadas mas eficazmente que cantidades mayores (48,62). La celulosa proveniente de frutas es más fermentada que la proveniente del trigo, por lo que también influye la matriz en la que se encuentra la fibra dietética .

El tiempo de tránsito en el intestino es influido a su vez por el tipo de alimentos consumidos en la dieta y los hombres tienen menor tiempo de tránsito que las mujeres (48).

En la presencia de otros nutrimentos, los hidratos de carbono colónicos proveen la energía necesaria para el crecimiento y mantenimiento de las células bacterianas. Al mismo tiempo los niveles de amonio (NH_4) intraluminal se reducen e incorporan a las proteínas de las células de las bacterias; además, durante el proceso de fermentación los materiales que han estado ligados a la fibra (iones metálicos, etc.) se liberan y los utilizan las bacterias o son absorbidos (7,24).

El colon humano tiene gran diversidad de población de bacterias, entre las que predominan las especies sacarolíticas, cuatro de los cinco géneros predominantes

en el colon son sacarolíticas, como la *Bifidobacteria*, *Bacteroides*, *Fusobacteroides* y *Butirivibrio*, presentando una actividad amilolítica de un 92% (4,7).

Se han visto diferencias en cuanto a la capacidad fermentativa que tienen algunas bacterias colónicas; por ejemplo ciertas cepas de *Ruminococcus* fermentan celulosa, celobiosa y xilano y otras hemicelulosas, pero no glucosa, xilosa u otros hidratos de carbono, mientras que *Bacteroides amylophilus* fermenta almidón y maltosa, pero no otros hidratos de carbono (63).

La masa bacteriana ocupa aproximadamente el 30% del volumen del colon humano, el número de microorganismos que se encuentran en la materia fecal son de un 10^{10} /g, su actividad metabólica determina el ambiente químico del colon, y es posible que se encuentre directamente relacionada con la etiología de las diferentes enfermedades del mismo (16,42,44).

Los estudios realizados con la microflora del colon humano indican que ocurre mas fermentación que la que se puede cuantificar por el rompimiento de los polisacáridos constituyentes de la fibra dietética; estas diferencias pueden ser causadas por almidón resistente a la digestión (AR). Mas aún, la presencia de ácidos grasos ramificados como el isobutirato y el isovalerato en el contenido colónico indica que también hay rompimiento de proteínas en el colon, estos provienen principalmente de valina e isoleucina (50).

Las propiedades proteolíticas del colon humano pueden deberse en parte a enzimas pancreáticas y a especies presentes normalmente en la flora bacteriana como *Bacteroides spp* y *Propionibacterium spp* ; esta proteólisis ocurre rápidamente, los péptidos y aminoácidos no se acumulan sino que producen AGCC, amonio y algunos ácidos fenólicos (4).

La masa bacteriana fecal incrementa con el aumento del consumo de fibra dietética (6). Aunque la composición de las especies de la flora colónica no se ve afectada por el tipo de dieta, los cambios en la dieta sí pueden producir cambios en las actividades metabólicas de la flora. Por ejemplo, si la dieta

proporciona nuevos tipos de sustratos, esto ocasionará cambios en las enzimas catabólicas microbianas, ya que las bacterias colónicas tienen la habilidad de producir rápidamente enzimas en respuesta a un sustrato particular (polisacárido) pues necesitan obtener energía para su crecimiento en un ambiente de constantes cambios en las mezclas de polisacáridos (44,59).

Cada especie de bacteria es capaz de una gran variedad de actividades metabólicas, y en diferentes especies se pueden encontrar capacidades metabólicas similares (59,60). En la tabla 3 se puede ver la fuente, la composición y la utilización de diferentes tipos de polisacáridos componentes de la fibra dietética.

Entre los factores que afectan la cantidad de polisacárido que es utilizado por las bacterias "in vivo" son: la accesibilidad del polisacárido en la pared celular de la planta, la competencia por los sustratos, tasas metabólicas bajas o la presencia de sustancias inhibidoras (44).

Otros productos de la fermentación, son: el amonio, varios ácidos carboxílicos y fenólicos y algunas aminas; el amonio se incorpora a la proteína bacteriana o es absorbido. La fermentación activa en el colon baja el pH del mismo, lo cual afecta a su vez el control de algunas enzimas, por ejemplo, la ácido biliar 7- -deshidroxilasa y la aminoácido descarboxilasa (4).

TABLA 3

FUENTE, COMPOSICION Y UTILIZACIÓN DE DIFERENTES TIPOS DE
POLISACÁRIDOS EN EL COLON HUMANO

POLISACARIDO	COMPOSICION	FUENTE	ESPECIES CAPACES DE UTILIZARLO
Celulosa	(1,4)glucanos lineares	Pared celular de las plantas	Bacteroides sp
Xilano	(1,4)xilosa, cadenas laterales de arabinosa	Pared celular de las plantas	B. ovatus, Bacteroides fragilis Bifidobacterium.
Glucanos no celulósicos	cadenas lineares de glucosa con uniones (1-4) y (1-3)	Pared celular de las plantas	B. uniformis, B. thetaiotao micron, Bacteroides "t4-1" Bacteroides distasonis
Pectinas	Polímeros lineares con uniones (1-4) con ac. Galacturónico	Pared celular de las plantas	B. ovatus, B. fragilis, B. vulgatus, Eubacterium eligens
Galactomanan	cadenas de Manosa (1-4)con cadenas laterales de Galactosa	Gomas y aditivos alimenticios	B. ovatus, B. uniformis Ruminococcus albus.
Mucopolisacáridos	Polímeros lineares, que contienen hexosaminas, Ac. Urónico y ésteres	Células epiteliales, tejidos animales	B. thetaiotaomicron, B. ovatus, B. fragilis.
Glicoproteínas	Polisacáridos y proteínas	saliva y células epiteliales	Algunos tipos de Bacteroides, Bifidobacterium bifidum

Aunque los AGCC se ionizan hasta en un 90% al pH normalmente encontrado en el colon, son absorbidos por el epitelio colónico. Se ha observado que estos ácidos son absorbidos aún más rápidamente que el cloro en condiciones equimolares y además aumentan la absorción de sodio y agua. Los AGCC se producen más rápidamente de lo que pueden ser neutralizados y absorbidos, lo que ocasiona una acidificación luminal ($\text{pH} < 5$) producción de ac. láctico, hiperosmolaridad y flujo neto de agua de la sangre al lumen. Esto se ha comprobado en casos de mala absorción severa de hidratos de carbono, donde se encuentran todas estas características, pero en condiciones normales, el colon es capaz de adaptarse al incremento de carga de hidratos de carbono y reducir su carga osmótica (64).

La fermentación colónica ocurre en un lugar relativamente inaccesible para su estudio "in vivo" (ciego y colon proximal) la mayoría de los AGCC producidos son absorbidos y eliminados del intestino, por lo que en estudios realizados para ver los efectos de la dieta en los niveles fecales de AGCC no se detecta ningún cambio significativo(50), así mismo, sus concentraciones en la sangre periférica no reflejan las concentraciones en la vena porta o en el intestino. Solamente el acetato puede ser medido con precisión en sangre periférica, pero arriba de cierta concentración (0.2-0.4 mM en ratas) es retirado por el hígado(1). La concentración hepática de AGCC es solo un 39% de la concentración en la vena porta. Ya que la circulación portal provee dos terceras partes del flujo sanguíneo hepático total en el hombre, es claro que el hígado toma estos aniones por este medio. Se ha visto un cambio pronunciado en la relación molar de los AGCC entre el lumen y la circulación portal; el butirato cae en una proporción del 21 al 8% mientras que el acetato aumenta de un 57 a un 75% del total. Esto se explica ya que el butirato es tomado y metabolizado por la mucosa colónica (50).

La fermentación microbiana no puede ser regulada, como otras funciones del organismo, por medio de control directo neuronal u hormonal sino que se lleva a cabo a través de los substratos, tanto endógenos como exógenos, además hay una gran diferencia entre las variedades de especies microbianas que hay entre

los individuos, esta mezcla de especies será la directamente responsable de los productos finales de la fermentación (42).

4.5 EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA FERMENTACIÓN COLÓNICA

La importancia de la fermentación colónica en el hombre, una relación simbiótica con la flora colónica, radica principalmente en los productos de la misma y el destino que tienen en el organismo (4). Se relaciona directamente con la absorción de agua y sales en el colon, la actividad intestinal, la excreción de sustancias tóxicas, el metabolismo de grasa e hidratos de carbono y sus productos parecen actuar como intermediarios del metabolismo en el epitelio colónico, el hígado y los tejidos periféricos (42,45, 51).

Aunque, aún no se comprende completamente cuál es el papel que juegan los AGCC producidos durante la fermentación en el metabolismo humano (13,55), recientemente se ha descubierto su importancia en la explicación de algunos efectos metabólicos atribuidos a la fibra dietética. Estos ácidos grasos (acético, propiónico y butírico) producidos en grandes cantidades en el colon humano, son rápidamente absorbidos pasando a la circulación portal y transportados directamente al hígado, a excepción de algo de butirato que es utilizado como fuente de energía por las células epiteliales colónicas (18,55).

Las células colónicas epiteliales necesitan fuentes de combustible para mantener sus funciones y su tasa de reposición; estas fuentes se derivan del contenido luminal, principalmente el butirato (39,65). En contraste con el intestino delgado, estas células toman la mayor parte de su energía del lumen, en lugar de la sangre, por lo que la falta de nutrición luminal induce la secreción de fluidos de la mucosa y por lo tanto hace las heces más aguadas. El uso de antibióticos orales suprime la producción de AGCC; esto, además de la dieta preoperatoria, normalmente baja en fibra, puede ser en parte la causa de la diarrea postoperatoria que muchos pacientes presentan. La falta de AGCC en el lumen puede también ser la causa de diarrea en los estados graves de desnutrición; en esta situación la diarrea es una manifestación específica de desnutrición del colon (40).

La función del colon de absorber sodio y agua que no fueron absorbidos en el yeyuno e íleon depende de la integridad de las células epiteliales colónicas, que es mantenida por los AGCC lumbales. Con el agotamiento de AGCC bajo condiciones de desnutrición, la integridad de la mucosa se daña, causando secreción de las células epiteliales, y por consiguiente diarrea. También, bajo estas condiciones se pierde la regulación hormonal de la absorción de esteroides, mineralocorticoides y glucagón. Aunque la fosfatasa y la anhidrasa carbonica interactúan en el control de la absorción de iones, el mecanismo preciso de la transferencia de iones a la membrana colónica aún no se sabe (66). Otro riesgo para la diarrea es la alimentación enteral, pues casi todos los productos se absorben en el intestino delgado y se desarrolla desnutrición colónica, bajando la producción de AGCC y por lo tanto la absorción de sodio y agua (43). La rápida absorción de los AGCC en el colon puede mejorar algunos casos de diarrea, debido a la absorción concomitante de agua y electrolitos(48).

El colon juega un papel importante en la reducción de la carga osmótica y la conservación del valor de la energía de los hidratos de carbono no absorbidos a través de la absorción de los productos derivados de la fermentación de estos hidratos de carbono durante el metabolismo de las bacterias colónicas (54).

Los AGCC estimulan el flujo colónico acelerando el transporte iónico y teniendo efectos trópicos en la pared del intestino. La producción de AGCC baja el pH luminal y esto influye en la proliferación de células colónicas epiteliales (48), también se ha demostrado que los AGCC participan en la regulación del volumen fecal y la absorción de fluidos intestinales (13). La fermentación de la fibra dietética mejora la absorción de Ca^{++} , Mg^{++} y vitamina K y además reduce la absorción de ácidos biliares (24). Los iones acetato, butirato y propionato son transportados por el HCO_3^- , pudiendo entrar así a través del borde en cepillo y la membrana basolateral (40).

Se ha observado que los AGCC absorbidos influyen en el metabolismo de los lípidos. Así parece ser que el acetato y el propionato actúan como inhibidores de la síntesis de colesterol; aunque el acetato es el principal sustrato para la síntesis de lípidos y en algunos estudios previos se ha reportado que incrementa el colesterol en plasma, este incremento se inhibe con la presencia de propionato (36,67).

Parece ser que la fermentación colónica ayuda a mejorar los niveles de glucosa en la sangre, lo cual está directamente relacionado con la producción hepática de la misma, aunque Sheppach(1988), Laurent(1995) no encontraron cambio alguno en la producción de glucosa hepática con la administración de fibra dietética; otros investigadores, Voster y Cumming (1990) sí encontraron mejora en los niveles de glucosa en sangre. Lo que en todos los estudios revisados se observó es una marcada disminución de ácidos grasos libres (AGL) en la sangre que parece tener efectos benéficos en la sensibilidad a la insulina: las altas concentraciones de AGL se asocian con la inhibición de la entrada de glucosa a los tejidos, ya que parece haber competencia de estos dos sustratos (glucosa y AGL) por la entrada a los músculos; el alto consumo de fibra baja concentraciones de AGL en sangre y por lo tanto mejora la sensibilidad a la insulina, propiciando entrada de glucosa a las células del músculo.

La relación de los cambios en el metabolismo de los AGL con los cambios en glucosa fue planteada años atrás por Randle y colaboradores (1963) y parece ser uno de los principales factores que controlan la utilización de glucosa en el ser humano, por lo que ha sido investigada por diferentes autores; se ha comprobado que concentraciones altas de AGL en sangre propician la oxidación de estos ácidos en el hígado, generando acetil coA, que activa la enzima piruvato carboxilasa, e inhibe la enzima piruvato deshidrogenasa, estimulando la gluconeogénesis hepática y la conversión de glucosa a lactato en el músculo. Al disminuir las concentraciones de AGL plasmáticos el mecanismo es el contrario (27,35,67).

Los AGCC producidos en la fermentación tienen efectos hipocolesterolémicos, especialmente el propionato. Sin embargo, la fibra mejora la actividad bacteriana y por lo tanto la capacidad de las bacterias para sintetizar acetato lo cual reduce, a través del tiempo, su efectividad como agente hipocolesterolémico (30). Los efectos de la fermentación colónica en la concentración de glucosa y de lípidos sanguíneos dependen de las proporciones relativas de propionato y acetato producidas; estas proporciones varían de sujeto a sujeto, debido a la influencia de la naturaleza de la flora colónica presente en el intestino y la naturaleza de los sustratos que entran al colon (67).

La hemostasia (cese de sangrado que sigue a la interrupción traumática de la integridad vascular) se lleva a cabo gracias a la acción de varios factores, entre ellos el fibrinógeno -precursor de la fibrina- que forma coágulos sanguíneos.

Un importante factor de riesgo para la trombosis, arteroesclerosis y enfermedades coronarias es la hemostasia anormal caracterizada por una hipercoagulabilidad resultado del aumento del fibrinógeno en plasma. Existen claras evidencias de que la dieta puede influir en esta hemostasia; Malhotra (1985) menciona la posibilidad de que los AGCC tengan efectos inhibidores de la coagulación de la sangre; aunque el mecanismo por medio del cual actúan aún no es claro, es posible que se deba al ácido propiónico, que pudiera inhibir la síntesis de fibrinógeno y otros factores de coagulación en el hígado. Koeppe y Hegewisch (1981) encontraron una reducción de la concentración de fibrinógeno en pacientes diabéticos suplementados con goma guar y glucomanan. Por otro lado, Pilgeram y Pickart (1986) mostraron que alta concentración de AGL estimula la síntesis de fibrinógeno, por lo que se pensó que el mecanismo por medio del cual la fibra dietética baja la concentración de fibrinógeno es a través de los AGL. El posible efecto inhibitorio de los AGCC a través de la reducción de AGL en sangre amerita mayor investigación(18):

Otro efecto de la fermentación en el colon es el tomar parte de nitrógeno para la síntesis de proteína microbiana; las fuentes que utiliza son la urea (que es

hidrolizada por la ureasa microbiana hacia amonio) y proteína dietética o endógena. El aumento de la masa microbiana es responsable del incremento en la masa fecal debido a la fibra dietética soluble. Se ha visto que fibras solubles, producen poca excreción de fibra, pero incrementan los sólidos provenientes de la masa bacteriana en mayor proporción que fibras insolubles; esto explica su contribución al incremento del peso de las heces, no su alta capacidad de retención de agua (14).

La deficiencia luminal de AGCC produce inflamación de la mucosa colónica y su relación causa-efecto está bien documentada, aunque el mecanismo de esta relación aún no está bien establecido (68).

Estudios hechos con ratas han demostrado que afecta el metabolismo de esteroides, ya que los microorganismos poseen varias enzimas metabolizadoras de hormonas esteroideas que pueden afectar las proporciones de esteroides en el intestino (42).

Los AGCC formados en el colon son uno de los principales factores que protegen contra malformaciones de la mucosa. Al bajar el pH colónico por la producción de AGCC, se inhibe la transformación bacteriana de ácidos biliares primarios a secundarios (desoxicólico y litocólico) e incrementa la solubilidad de estos ácidos. Los ácidos biliares secundarios son citotóxicos para las células colónicas y provocan el incremento en la proliferación de células que está asociada con una alta susceptibilidad al desarrollo de cáncer colónico (11,38). Se ha demostrado con la incubación de biopsias de colon humano que al ac. desoxicólico induce la hiperproliferación con la expansión de la zona proliferativa, lo cual es considerado un signo de transformación neoplásica (38,69).

4.5.1 ACIDO ACETICO

El acetato es el AGCC que se produce con mayor abundancia durante la fermentación (51). Después de ser absorbido en el colon pasa a la circulación y llega a los tejidos periféricos, siendo metabolizado por los músculos (4,18,51) que lo oxidan inmediatamente en un 90% (67). El ac. acético es el único anion encontrado en cantidades detectables en sangre periférica. No parece tener influencia alguna en la insulina plasmática, por lo que no se han encontrado efectos sobre la tolerancia a la glucosa en sujetos normales.

El acetato incrementa la concentración de colesterol total en la sangre, pero esto no sucede si se administra junto con propionato; así mismo reduce la concentración de AGL, que es más marcada al administrarse en combinación con propionato (67).

El acetato y el butirato parecen estimular la gluconeogénesis hepática, activando la enzima piruvato carboxilasa vía generación de acetil CoA (18). Además, el acetato puede servir de sustrato para la síntesis hepática de lípidos. El primer paso en el metabolismo del acetato es la activación de la acetil CoA por la enzima acetil CoA sintetasa, que se encuentra en el citosol y la mitocondria de muchos tejidos. Al incrementar la concentración de acetato, menor cantidad es oxidado en músculos y más es incorporado a la producción de colesterol y triglicéridos, pero también se ha demostrado que el propionato inhibe su incorporación a triglicéridos plasmáticos aunque no tiene ningún efecto sobre la oxidación del mismo a nivel muscular (36).

4.5.2 ACIDO PROPIONICO

El propionato de sodio se ha utilizado en la industria alimenticia en bajas concentraciones desde 1930 para inhibir el crecimiento bacteriano, por su capacidad de inhibir la acción de enzimas indispensables en el metabolismo de

las células (25), pero es hasta ahora que esta propiedad se ha estudiado para conocer los efectos del mismo en las enzimas claves del metabolismo humano (55).

Se afirma que el propionato es utilizado en el hígado (en un 80 a 100%) ya que existe en grandes concentraciones en la circulación portal, y en muy baja concentración en la circulación periférica(67).

Los efectos del propionato en el metabolismo de la glucosa han sido ampliamente estudiados en algunas especies de rumiantes. Hay algunos datos que sugieren que el propionato es un potente inhibidor de la conversión de lactato a glucosa en el hígado. Uno de los principales efectos documentados del propionato es el incremento de la glucólisis. Parece ser que el gluconato baja la concentración hepática de acetil Co A e inhibe la actividad de la piruvato carboxilasa (18). Por otro lado, otros autores atribuyen el incremento de la glucólisis observado con el propionato a la disminución de la concentración hepática de citrato, que es reducido por los metabolitos del propionato, ya que éste parece regular la actividad glucolítica por medio de la inhibición de la actividad de la fosfofructoquinasa(18,27). Así, el propionato puede disminuir la producción de glucosa hepática a través de la inhibición de la gluconeogénesis, o por el aumento de la glucólisis (27).

En estudios anteriores se asocia la alta concentración de propionato en la dieta con una aparente mejora en la tolerancia a los hidratos de carbono. Se ha demostrado que el propionato disminuye la digestibilidad de algunos alimentos al ser adicionado a ellos (por ejemplo en el pan) inhibiendo la actividad de la amilasa y reduciendo así la respuesta posprandial a la glucosa. También se han observado efectos a largo plazo en el metabolismo de los hidratos de carbono, resultado de un aumento en la tolerancia a la glucosa (31).

Parece ser que el propionato también tiene efectos hipocolesterolémicos, como se ha demostrado en estudios realizados en hepatocitos aislados de ratas, así como la inhibición de la síntesis de algunos ácidos grasos (18,31).

Se puede afirmar que el propionato inhibe la utilización del acetato para la síntesis de colesterol(31). En algunos estudios, se comprobó que el propionato inhibe la incorporación de acetato a ácidos grasos y esteroides, efecto que parece deberse a la inhibición de la acetil CoA sintetasa (11), otra explicación es que puede deberse a la inhibición de la HMG CoA reductasa, enzima limitante en la síntesis del colesterol (67).

4.5.3 ACIDO BUTIRICO

El ácido butírico es la principal fuente de energía de los colonocitos normales que lo prefieren sobre la glucosa, la glutamina y los cuerpos cetónicos; la fermentación es la única fuente del mismo para los colonocitos, y se ha comprobado que reduce el crecimiento de células colónicas cancerosas y facilita la reparación de DNA "in vitro" (1,40,70). También es la principal fuente de combustible para la respiración de la mucosa colónica, más del 70% del oxígeno consumido por los colonocitos se obtiene de la oxidación del butirato (65).

La absorción de sodio en el colon es dependiente de la producción de CO₂ a partir de butirato en los colonocitos; más del 70% del CO₂ producido en el colon se deriva del butirato. Los cambios en la producción del mismo, ya sea por regulación metabólica del butirato o por cambios en el pH celular alteran la transportación iónica a través de las células epiteliales colonicas . Con el incremento de CO₂ celular, la acidosis metabólica incrementa la absorción de sodio en los colonocitos, mientras que la alcalosis produce lo contrario. Durante periodos de ayuno, los colonocitos no muestran oxidación compensatoria de otros substratos diferentes al butirato, pero su función de absorción se encuentra disminuida; la regulación de la oxidación del butirato está determinada por la disponibilidad del mismo y el grado de activación de los derivados de la coenzima A. El butirato, además de ser oxidado a CO₂, provee la principal fuente de acetil coenzima A para la síntesis de los lípidos de las membranas

epiteliales colónicas. Cuando su oxidación disminuye (como en la colitis ulcerativa) la unión de los lípidos de las membranas se ve también seriamente alterada (66).

A este anión se le atribuyen algunas propiedades antineoplásicas(55), promueve la diferenciación de células y reduce la tasa de crecimiento a la mitad (11); juega un papel importante en la proliferación y diferenciación de las células epiteliales colónicas, se ha comprobado que reduce el crecimiento y aumenta la diferenciación de varios tipos de células cancerosas colónicas (39,71).

La uroquinasa (U-pa) es una proteasa; su principal substrato es el plasminógeno, del que se genera la plasmina que por sí misma es una proteasa neutral. El mayor sitio de acción de la U-pa es la superficie de la membrana plasmática y tiene particular relevancia en la biología del epitelio colónico. La actividad de la U-pa en la superficie del colonocito y en consecuencia la activación de la plasmina tiene un papel importante en el control de la adhesión de células. La integridad del epitelio colónico depende de la capacidad de las células de adherirse a sus vecinas y a la base de la membrana; en la colitis el contenido de U-Pa y su actividad están incrementados y hay evidencias de exceso de adhesión célula-célula y de interacciones célula-célula (mayor permeabilidad epitelial, tasa de reposición excesiva y ulceración). Se ha demostrado que el butirato causa una inhibición dependiente de la concentración de la secreción de U-Pa "in vitro" tanto en células normales como cancerosas, lo que tiene implicaciones en el entendimiento de la fisiología normal del epitelio colónico y en el tratamiento de enfermedades inflamatorias y neoplásicas del colon (68).

Se han encontrado datos que sugieren que la utilización anormal de butirato por los colonocitos contribuye a la patogénesis de la colitis inflamatoria, así el incremento de butirato intraluminal puede ser benéfico para mejorar el transporte que es dependiente de concentración del ion dentro de la célula (40).

4.6 ESTUDIOS "IN VIVO" DE FERMENTACION COLONICA

Existen muchos hallazgos que soportan la ocurrencia de la fermentación colónica, pero debido a las dificultades de acceso al intestino grueso humano, mucha de esta evidencia se ha obtenido en forma indirecta (50).

Se han encontrado como buenos indicadores indirectos de la fermentación colónica tanto la concentración de acetato en plasma como la concentración de hidrógeno en el aire espirado (51).

Existen grandes diferencias interindividuales en el tiempo de retención colónica de las diferentes fibras lo cual causa también grandes diferencias al realizar estudios de fermentación colónica "*in vivo*" (24).

PRUEBA DEL HIDROGENO ESPIRADO

Esta técnica fue desarrollada desde 1969, para estudiar la digestión de hidratos de carbono ingeridos por medio de la medición continua de la excreción pulmonar de H_2 (72,73), y se basa en el siguiente principio:

Bajo apropiadas condiciones de pH, algunas especies de la flora bacteriana colónica que se encuentra en el tracto digestivo humano son capaces de fermentar los hidratos de carbono que llegan al colon, obteniéndose como uno de los productos finales hidrógeno, el cual se absorbe en un 14 a 20% y se elimina a través de la respiración (50,54,56). Después de la ingestión de un glúcido, el incremento en la excreción de H_2 ocurre solamente cuando el material ingerido no se absorbe y por lo tanto es expuesto a la flora bacteriana que se encuentra en el colon(72,74,75). Además de la absorción, el H_2 presenta otras rutas, como son la metanogénesis, la reducción de sulfato y la acetogénesis (76).

El Hidrógeno (H_2) espirado ha sido ampliamente utilizado para evaluar mala digestión de hidratos de carbono, tránsito intestinal y actividad bacteriana, aunque la aplicación de esta prueba depende de la presencia activa de flora colónica capaz de metabolizar los hidratos de carbono no absorbidos a H_2 (54,77).

Se pueden obtener falsos negativos en sujetos incapaces de producir H_2 , con una incidencia de 0 a 30% dependiendo del criterio utilizado al definir "falta de producción" (78). Aunque este fenómeno es raro, la técnica no puede aplicarse para evaluar malabsorción de hidratos de carbono en estos sujetos (72). Un incremento de más de 20ppm de H_2 en la respiración, sobre los niveles basales se utiliza como criterio para diagnóstico de mala absorción - con una especificidad casi del 100%- (73,79) por lo que los pacientes incapaces de generar incrementos mayores a 20 ppm pueden aumentar los falsos negativos. La habilidad de producir H_2 no varía con el sexo o la raza, pero sí con la edad, parece ser que sujetos mayores producen cantidades significativamente mayores de H_2 que los más jóvenes, lo cual puede deberse a diferencias en movilidad o en actividad metabólica de la flora bacteriana (78). Además del criterio del aumento de 20 ppm de H_2 , el sistema más apropiado para determinar la respuesta de H_2 a una dosis oral de hidrato de carbono es el área bajo la curva de la gráfica de concentración de H_2 vs tiempo (56). El pico más alto es el máximo incremento en la excreción de H_2 sobre los valores previos y el tránsito boca-colon es el intervalo entre la ingestión y el primer incremento en la concentración de H_2 (49,80).

Aproximadamente 10 minutos después de la ingestión del glúcido no absorbible (aveces es más tiempo) hay un incremento en el H_2 espirado (nunca es mayor a 10 ppm), que puede deberse a la interacción del glúcido con las bacterias orales, hay estudios que apoyan esta afirmación y puede eliminarse si el sujeto se hace una higiene bucal antes del mismo (81,82). Es necesario relacionar el exceso de producción de hidrógeno con la cantidad absoluta de hidrato de carbono que no ha sido absorbido en el intestino delgado y por lo tanto es fermentado en el colon (56,83).

El problema para conocer la cantidad de hidrato de carbono que no se absorbe radica esencialmente en la subjetividad de la excreción de H_2 por gramo de hidrato de carbono, la cual se debe tanto a la diferencia cuantitativa como cualitativa del contenido de bacterias intestinales entre los individuos, por lo que se utiliza un hidrato de carbono no absorbible como la lactulosa como dosis de referencia ya que existe una relación estequiométrica entre dosis graduales de lactulosa administrada y la excreción de hidrógeno en el mismo individuo (83).

Se ha demostrado que el intestino delgado humano es incapaz de absorber lactulosa, ya que la ingestión de dicho hidrato de carbono no ocasiona el incremento de ninguna sustancia reductora en sangre, ni hay excreción de lactulosa en la orina, además de que es bien sabido que la enzima necesaria para su hidrólisis no se encuentra presente en el intestino (72). La principal prueba para verificar si el sujeto de estudio es productor de H_2 es, por tanto, la prueba de la lactulosa (78).

La producción de H_2 es dependiente del pH; la máxima producción ocurre en pH neutro y declina conforme el pH se va acidificando (78,84), por lo que se puede afirmar que la eficiencia del metabolismo de hidratos de carbono bacteriano es pH dependiente; esto altera la producción de H_2 y puede afectar la interpretación de la prueba. También hay inhibición de la producción de H_2 en intervalos de pH mayor a los fisiológicos (5.5-7.6)(54).

Debido a la simplicidad, a la naturaleza no invasiva y al bajo costo del análisis, la prueba del H_2 espirado se ha vuelto muy popular en la última década; es una técnica lo suficientemente sensible como para detectar hasta 2 g de hidrato de carbono absorbido incompletamente (79). Esta prueba se utiliza actualmente para gran variedad de diagnósticos gastrointestinales, más allá de la medición de absorción de hidratos de carbono (56), además es una prueba bien tolerada por los voluntarios estudiados (72) aunque en algunos casos se ha informado que la producción de H_2 ha estado acompañada de síntomas adversos, como distensión abdominal, cólico y diarrea (85).

En la tabla 4 se presentan algunas aplicaciones de esta prueba para el análisis de absorción de hidratos de carbono y en la tabla 5 se presentan las aplicaciones más comunes de esta prueba para diagnósticos gastrointestinales.

TABLA 4

**APLICACIONES CLINICAS DE LA PRUEBA DEL HIDROGENO ESPIRADO
PARA ESTUDIOS DE ABSORCION DE HIDRATOS DE CARBONO**

Mala absorción de lactosa
Mala absorción de sacarosa
Mala absorción de glucosa
Errores innatos en el metabolismo de monosacáridos
Investigación de trastornos funcionales gastrointestinales
Evaluación de la adaptación intestinal después de resección del intestino

(56)

TABLA 5

**APLICACIONES CLINICAS DE LA PRUEBA DEL HIDROGENO ESPIRADO
EN EL ANALISIS DE DIAGNOSTICO GASTROINTESTINAL**

Sobrecrecimiento de bacterias en el intestino delgado
Tiempo de tránsito gastrointestinal (boca - colon)
Monitoreo de flora neonatal
Problemas causados por enterocolitis necrosica
Monitoreo de acumulación de gas durante cirugía colonoscópica

(56)

Se ha demostrado que, al ser fermentada la fibra dietética, también se obtiene una respuesta detectable de H_2 espirado, y el tiempo de tránsito de la boca al colon de dicha fibra puede medirse observando el intervalo entre la ingestión del hidrato de carbono y la primera alza significativa en la excreción de H_2 (47,56).

El tiempo de tránsito boca-colon por medio del H_2 espirado incluye el tiempo de llenado gástrico, tiempo de vaciamiento gástrico, tiempo de tránsito en el intestino delgado y cualquier retraso en la mezcla del sustrato con la flora bacteriana en el colon (47).

Los patrones de producción de H_2 son muy diferentes entre las distintas fibras (76,81). Levit y colaboradores demostraron que los PNA son convertidos en hidrógeno mucho más despacio y en menor cantidad que hidratos de carbono más solubles como la glucosa, el almidón y la lactulosa (47).

Normalmente, esta prueba se lleva a cabo durante las 6 horas posprandiales para estudios clínicos o experimentales y 4 horas para estudios de campo, con la finalidad en ambos casos de obtener sensibilidad y especificidad aceptables en la evaluación (83).

La eficiencia con que se absorbe el H_2 colónico depende de la cantidad de H_2 que se acumula en el colon. Cuando la tasa del gas acumulado es baja (76ml/6h) la eficiencia en la absorción es mayor y cuando ésta es alta, gran cantidad de H_2 se excreta como flatulencia; esto es importante de tomar en cuenta en pacientes que presentan síntomas relacionados con flatulencia después de la ingestión de alimentos con alto contenido de hidratos de carbono no absorbibles, como la fibra dietética. La absorción de H_2 colónico es influenciada también por la fermentabilidad del sustrato; una rápida fermentación incrementa la acumulación de gas y por lo tanto disminuye la eficiencia de su absorción. En cambio, una fermentación lenta hará más eficiente

la absorción del gas . Durante periodos de ayuno, no hay producción de H_2 en el cuerpo (86).

Se han desarrollado tres técnicas analíticas para medir la concentración de H_2 en el aire espirado; estas son: el cromatógrafo de gases de conductividad térmica, cromatógrafo de gases de ionización y espectrometría de masas. El primero es el más utilizado (73).

Este análisis puede llevarse a cabo en forma simple con un cromatógrafo de gases de conductividad térmica especialmente adaptado para medir pequeñas cantidades de H_2 , el cual es compacto y de costo accesible. El análisis es rápido y los resultados pueden obtenerse casi inmediatamente, además de que las dosis de hidrato de carbono administrada no necesita ser excesiva; estas son ventajas sobre aquellos análisis que requieren toma de muestras de sangre, intubación intestinal o el uso de radioisótopos (74).

El H_2 es el gas más volátil, lo que es importante de considerar al pensar en el almacenaje del mismo antes del análisis, después de ser colectado debe trasladarse inmediatamente a recipientes herméticos. Las jeringas de plástico con válvulas herméticas son adecuadas para un tiempo de almacenamiento no mayor de 24 h para no tener pérdidas significativas de H_2 (73). La aplicación de esta prueba para investigación tiene algunas limitaciones(ver tabla 6); para resolver todas estas limitantes, se utiliza la prueba de lactulosa, pues como se mencionó anteriormente, de esta manera se establece si el sujeto es adecuado o no para este tipo de prueba (56).

La ausencia de flora colónica apropiada ocasiona que no haya incremento de H_2 en la prueba, la administración de antibióticos orales, así como los enemas reducen la flora colónica y por lo tanto la respuesta a esta prueba. La diarrea aguda también reduce la respuesta, posiblemente por la alteración en la flora colónica, cambios en las rutas de excreción de H_2 o reducción del tiempo de contacto de la fibra con las bacterias. Otro factor que reduce la respuesta es el pH colónico, debido a una fermentación continua. La concentración de H_2

debida a un hidrato de carbono no absorbible aumenta durante el sueño, aunque el mecanismo de esto aún no es bien conocido, el tabaco contiene H₂ con lo cual se incrementaría artificialmente la respuesta a esta prueba (73).

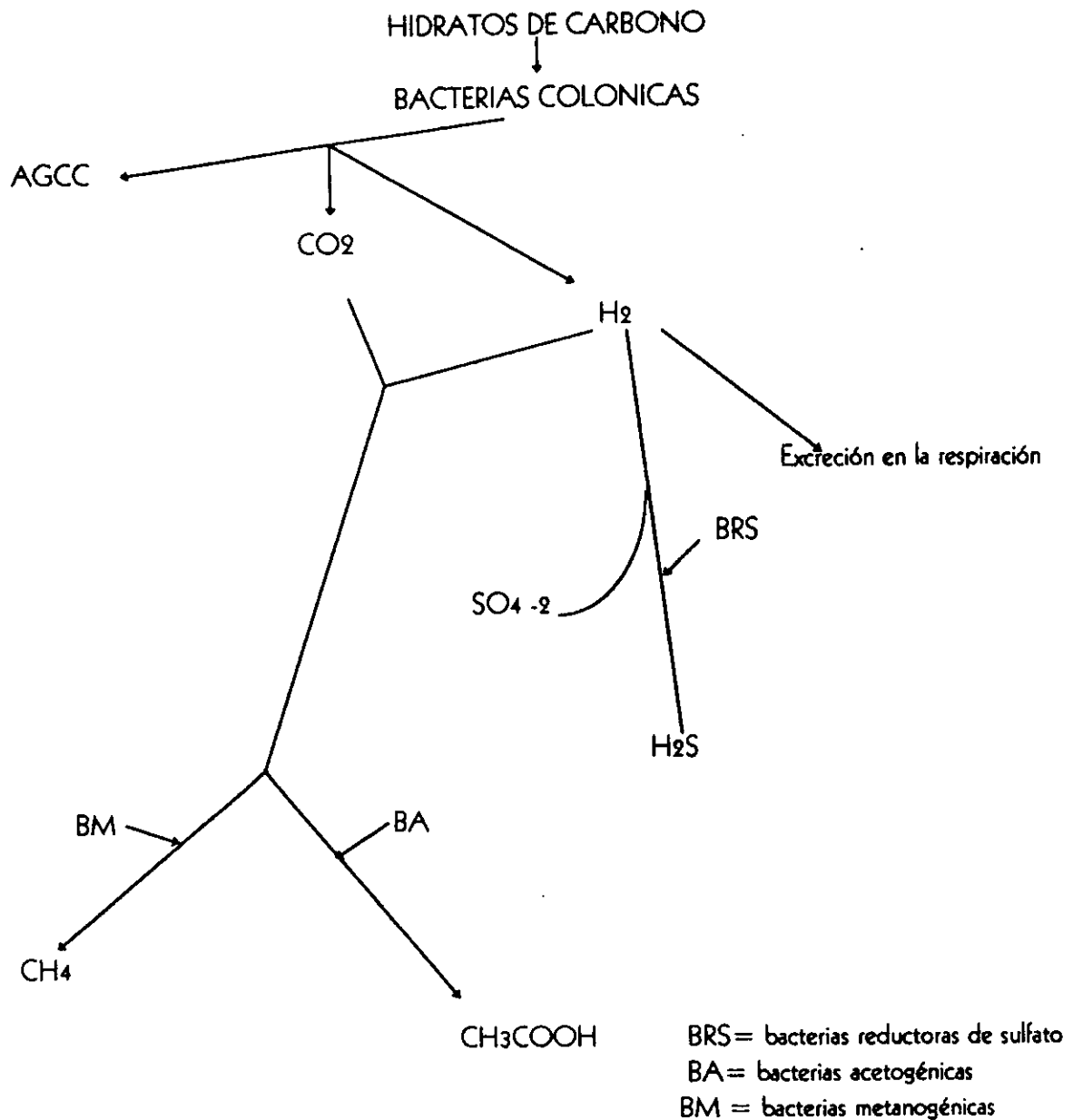
TABLA 6

LIMITACIONES EN LA APLICACIÓN E INTERPRETACION DE LA PRUEBA DE HIDROGENO ESPIRADO

Ausencia idiopática de adecuada flora bacteriana
Uso previo de antibióticos orales
Uso previo de enemas colónicos
Medio ácido debido a fermentación continua
Diarrea
Concentraciones elevadas de H₂ basal en estado de ayuno
Vaciamiento gástrico retardado
Fumar durante el periodo de prueba
Dormir durante el periodo de prueba
Administración del hidrato de carbono a estudiar junto con alimentos que contengan fibra dietética
Administración del hidrato de carbono a probar junto con alimentos altos en glucoproteínas
Almacenamiento de las muestras de H₂ en jeringas contaminadas

El H_2 puede ser metabolizado por las bacterias colónicas de muy diferentes maneras, si la flora colónica contiene suficientes cantidades de bacterias metanogénicas el H_2 producido en la fermentación será utilizado para sintetizar metano, lo cual afectaría también la interpretación del estudio (10). Por ejemplo, en el colon también existen bacterias reductoras de sulfato que son obligadamente anaerobias y que utilizan el sulfato como un agente oxidante, el H_2 molecular también actúa como donador de electrón para la reducción de sulfato, así el producto final será H_2S , otra forma en que el hidrógeno puede ser metabolizado en el colon es a través de la reducción de CO_2 a acetato, que ocurre preferentemente a pH bajo. Cualquiera de estos procesos remueve cuatro moles de H_2 por mol de CO_2 o SO_4^{2-} reducidos. En la fig 3 se observan las diferentes vías que puede seguir el H_2 en el colon (87).

FIGURA 3
 POSIBLES VIAS METABOLICAS DEL H₂ EN EL COLON



Si hay disponibilidad de SO₄ -₂, las BRS producen H₂S a partir de H₂, si no está este sustrato disponible, las BM y BA compiten por los sustratos disponibles (CO₂ y H₂) para formar metano y acetato respectivamente.

4.7 ESTUDIOS "IN VITRO" DE FERMENTACIÓN COLÓNICA

Ya que la fermentación colónica ocurre en un lugar relativamente inaccesible, que la mayoría de los AGCC producidos son absorbidos y removidos del intestino y que sus concentraciones en sangre periférica no reflejan las concentraciones en la vena porta o en el intestino, se han utilizado ampliamente en este tipo de estudios los modelos animales y los cultivos *"in vitro"* (1,16).

Se han hecho muchos experimentos para diseñar métodos simples que puedan medir el potencial biológico de varias fibras dietéticas. Los modelos utilizados simulan lo que sucede en el tracto gastrointestinal humano; por ejemplo, se utiliza el método de diálisis para predecir la acción de la fibra soluble en la absorción de la glucosa. Este método ha dado resultados satisfactorios, aunque es importante considerar los cambios en viscosidad que pueden ocurrir con ciertas mezclas de fibras durante su tiempo de tránsito en el intestino. Se han desarrollado modelos muy eficientes de la fermentación colónica de la fibra, es más difícil crear modelos para medir el efecto de la fibra sobre el colesterol del suero y peso de las evacuaciones (28).

Los AGCC se absorben rápidamente del colon, por lo que si se desea saber la producción de AGCC, los estudios *"in vivo"* que miden excreción de los mismos, no reflejan realmente lo que se produce en el colon, pues la excreción es la diferencia entre la producción y la absorción de estos ácidos, y esta se encuentra determinada por un sinnúmero de factores (41,49). Debido a la rápida absorción de los AGCC, a la viscosidad del contenido digestivo, el tamaño de partícula de la fibra y la variación de los tiempos de tránsito intestinal, es difícil correlacionar directamente la concentración de AGCC y la digestibilidad de la fibra *"in vivo"* (48).

A causa de estas dificultades y el costo de estimar *"in vivo"* la fermentación en el colon humano, se han desarrollado una serie de sistemas *"in vitro"* utilizando

bacterias fecales para este propósito (Mc. Burney 1989, Stevens 1988, etc.) Es importante estar seguros de que los substratos están en la forma en que se encontrarían en el colon en vivo, pues numerosos substratos como el salvado de trigo y otros cereales tienen cantidades significativas de almidón y proteínas que también se encuentran disponibles para la fermentación (45).

En diversos estudios se ha demostrado que los cultivos utilizados para simular fermentaciones "*in vitro*" proveen resultados de fermentabilidad del substrato y capacidad de retención de agua comparables con los publicados "*in vivo*", obviamente sin tomar en cuenta los tiempos de retención del substrato, los cuales no es posible medir por este sistema (32).

Mc.Burney y colaboradores (55) demostraron en sus estudios que las heces fecales humanas son una fuente práctica de microorganismos para evaluar las propiedades fermentativas de diferentes substratos, y que son lo suficientemente uniformes como para dar resultados similares en fermentaciones "*in vitro*". También afirmó que la fermentación colónica de fibras dietéticas purificadas puede predecirse con la fermentación "*in vitro*"; su técnica demostró evaluar las características fermentativas de substratos, tanto cuando el donador es uno en diferentes tiempos, como cuando hay varios donadores (20).

Los sistemas de fermentación "*in vitro*" ofrecen algunas ventajas como la reducción de costos, mayor libertad de experimentación que con animales y lo más importante es que la duración y las condiciones de la fermentación pueden ser controladas, basta con obtener las especies representativas de la flora colónica que se encuentran en las heces fecales. Se ha demostrado que en sujetos saludables la cuenta bacteriana y el número y la distribución de las especies no varía significativamente, así como la producción de AGCC es comparable con estudios hechos "*in vivo*"(55).

Tanto en estudios *"in vivo"* como *"in vitro"* se han encontrado diferencias entre las fermentaciones de fibras solubles e insolubles; aunque Nordgaard (1995) no encontró asociación entre el H₂ espirado y la fermentación de hidratos de carbono complejos, posiblemente porque estos se convierten en H₂ más despacio que los simples (49). En estudios hechos *"in vitro"* con celulosa, Raganathan (1994) no encontró diferencia en la producción de AGCC, pero sí en la producción de H₂ *"in vivo"* (8). Mc Burney y Thompson concluyeron que hay relación entre estudios de producción de AGCC en heces fecales *"in vitro"* e *"in vivo"*, por lo que los primeros pueden predecir los resultados de los segundos (55).

5.- MATERIALES Y METODOS

5.1. SUBSTRATOS PARA LA FERMENTACIÓN

5.1.1. SELECCIÓN Y OBTENCIÓN DE SUBSTRATOS

Se seleccionaron cinco diferentes fuentes de fibra dietética utilizadas comúnmente en los productos disponibles en el mercado en México:

- Salvado de Trigo (ST): En venta en tiendas de autoservicio del D.F.: (Nutrisa, S. A. de C. V.)
- Glucomanan (GM): Se obtiene a partir de la harina del konyac, mediante el proceso de extracción de la *Amorphophallus konyac*, patentado y elaborado en Japón (Redifoods).
- Physillium plántago (PP): Se obtiene por extracción y desecación de la planta del mismo nombre (Konsyl, Missouri, EUA)
- Nopal deshidratado (ND): Se obtiene mediante desecación en secador de tambor, a partir del nopal fresco (Micrometrix, S.A.).
- Aislado de fibra de Soya (AS): Manufacturado por Protein Technologies Int (FIBRIM 1020, Soya Fibre).

5.1.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LAS DIFERENTES FUENTES DE FIBRA DIETÉTICA

En la tabla 7 se muestra la composición química de las fuentes de fibra dietética estudiadas, así como el porcentaje de fibra y el tipo de fibra que cada una presenta.

TABLA 7

COMPOSICION PROXIMAL DE LAS FUENTES DE FIBRA ESTUDIADAS

(g/100 g)

TIPO DE FIBRA	HUMEDAD	PROTEINAS	CENIZAS	GRASA	HIDRATOS DE CARBONO			
					TOTALES	FIBRA		
						TOTAL	SOLUBLE	INSOLUBLE
Salvado de trigo	9	13.9	4	5.3	66.4	43.2	2.3	40.9
Glucoman	4.2	0.2	0.8	0.4	94.4	83.4	81	3.4
Psillium plántago	8.3	6	3.8	2.8	87.3	87.3	11.2	76.1
Nopal deshidratado	12	2.8	16.8	1.8	66.6	55.1	20.2	35.1
Aislado de fibra de soya	4.9	12.3	6.4	0.3	76.1	68.8	5.5	63.3

Adaptado de Diaz, M. & J. Rosado (3)

Las proteínas fueron cuantificadas por método Kjeldhal, el contenido de cenizas y grasas mediante extracción con solventes; Los hidratos de carbono totales por diferencia y el contenido de fibra dietética mediante un método enzimático gravimétrico que permite evaluar el contenido de fibra soluble e insoluble

La capacidad de absorción de agua (Metodología de Mc. Conell, et. al.) es la siguiente:

TABLA 8
CAPACIDAD DE ABSORCION DE AGUA
DE LAS FUENTES DE FIBRA ESTUDIADAS

	ABSORCION DE AGUA g /g muestra seca
Salvado de trigo	3.4 ± 0.07
Glucomanan	33.1 ± 1.4
Psyllium plántago	27.7 ± 0.7
Nopal deshidratado	11.1 ± 0.17
Aislado de fibra de soya	23.4 ± 1.0

(3)

La viscosidad (determinada por viscosímetro Brookfield) a diferente pH se encuentra expresada en la tabla 9:

TABLA 9

VISCOSIDAD EN CENTIPOISES DE LAS FUENTES DE FIBRA
ESTUDIADAS

FUENTE DE FIBRA		VISCOSIDAD EN TIEMPO (horas)		
	pH	0	3	6
Salvado de trigo	2	1	1 ¼	1 ¼
	7	1	1 ½	1 ½
Glucomanan	2	16,000	32,000	71,000
	7	500	5,000	41,000
Psyllium plantago	2	50	130	150
	7	60	100	150
Nopal deshidratado	2	1	1 ½	1 ½
	7	1 ¼	1 ½	1 ½
Aislado de fibra de soya	2	1 ¼	1 ¼	1 ¼
	7	1 ¼	1 ¼	1 ¼

Adaptado de Díaz M. & J. Rosado (3)

5.2 ESTUDIO "IN VITRO" DE FERMENTACION COLONICA

5.2.1. ENSAYO

El método establecido en este ensayo de Fermentación "IN VITRO" va encaminado a simular los eventos que ocurren en el colon durante el catabolismo de hidratos de carbono que realiza la flora colónica en vivo (28).

Medio para la fermentación:

En estudios realizados por diferentes investigadores sobre las necesidades nutricias de la flora colónica humana, se ha comprobado que la mayoría de las bacterias que se encuentran en las heces fecales humanas pueden crecer en un medio químicamente simple, casi ninguna especie requiere nitrógeno orgánico para su crecimiento (63).

El medio Clostridial Reforzado (CM-149) se consideró el más adecuado para el tipo de fermentación a realizar. Este medio fue diseñado para Clostridium, pero resultó ser más efectivo para el crecimiento de bacterias colónicas que otros especialmente diseñados para las mismas; su composición es la siguiente:

Extracto de levadura	3.0 g/L
Peptona	10.0 g/L
Almidón soluble	1.0 g/L
Glucosa	5.0 g/L
Cisteinato HCL.H ₂ O	0.5 g/L
Cloruro de Sodio	5.0 g/L
Acetato de Sodio	3.0 g/L
Agar	0.5 g/L(88)

Se preparó el medio según las instrucciones sugeridas por el proveedor y se esterilizó en autoclave a 120°C durante 20 minutos con una presión de vapor de 2 atm.

Se transfirieron 30 mL del medio a frascos herméticos con capacidad de 50 mL, con tapa de rosca y válvula, que ya contenían 300 mg de la fibra dietética a estudiar.

Se inyectó nitrógeno para mantener las condiciones anaerobias dejando reposar los frascos a una temperatura de 4°C durante 12 a 24 h. para hidratar los substratos antes de la fermentación ya que en vivo, éstos llegan al colon completamente hidratados (20).

Una hora antes de la inoculación se pasaron a un baño de agua a 37°C , que es la temperatura del cuerpo humano.

Preparación del inóculo:

El estudio se realizó con heces de cinco donadores adultos que no hubiesen tomado antibióticos ni sufrido diarrea o algún otro trastorno gastrointestinal al menos dos meses antes de la donación.

Se diluyeron las heces 1:10 en una solución anaerobia (en este caso se utilizó el mismo medio que se usó para hidratar los substratos) y se agitaron hasta obtener una mezcla completamente homogénea (13).

Fermentación:

Para cada substrato a estudiar:

Se inocularon los frascos que contenían la fibra ya hidratada, con 4 mL de heces diluidas.

Se pasaron a un baño metabólico a 37°C con movimiento constante (40 rev/min).

Se retiraron dos frascos por donador cada dos horas, durante 12 horas, y se congelaron a -70°C para dar por terminada la fermentación.

Todos los frascos se almacenaron a dicha temperatura hasta el momento del análisis.

Se repitió este procedimiento con dos frascos sin sustrato por cada tiempo de fermentación para cada donador; estos se utilizaron como blancos para observar la producción de ácidos grasos volátiles de las heces por sí mismas durante la fermentación. Los valores obtenidos se restaron del total para cada tiempo de fermentación (45,59).

5.2.2. ANÁLISIS QUÍMICO:

Preparación de la muestra para el análisis:

Antes de realizar el análisis químico, la muestra que se encontraba almacenada a -70°C se descongeló y se centrifugó a 3,000 RPM durante 10 minutos. Después se dejó sedimentar a temperatura ambiente durante 3 a 4 horas.

Cuantificación de los ácidos grasos de cadena corta (AGCC):

La medición de las concentraciones de ácidos grasos (acético, propionico y butírico) en las heces al concluir la fermentación, se hizo por medio de cromatografía de gases, utilizando un cromatógrafo de gases con detector de Ionización de Flama marca Varian, modelo 3400. Se utilizó una columna capilar DB-FFAP (polietilen glicol modificada con ácido) de 0.25 mm de diámetro y 30 m de largo.

Las condiciones de temperatura a las que se llevó el cromatógrafo para realizar el análisis son las siguientes:

Inyector: 180°C

Horno: Temperatura inicial de 120°C

Incremento de 10°C por minuto

Temperatura final de 200°C

Detector: 180°C

Se utilizó como gas acarreador (fase móvil) N₂ grado cromatográfico, y como gases para la combustión, H₂ y aire extraseco.

Las etapas que se siguieron para llevar a cabo el análisis fueron las siguientes:

-Acondicionamiento de la columna: Cuando la columna es nueva y cada vez que es necesario limpiarla, ésta se conecta al inyector y se calienta 10°C por minuto hasta llegar 20°C abajo de su temperatura máxima de operación. Se mantiene a dicha temperatura durante 24 horas.

-Programación del Cromatógrafo de gases: Para llevar a cabo el análisis de forma adecuada es necesario encontrar las condiciones óptimas de operación del cromatógrafo. Para esto se experimenta inyectando patrones a diferentes diluciones y variando las temperaturas, las presiones de los gases, las velocidades de flujo, etc. hasta obtener un cromatograma con la suficiente resolución que permita identificar claramente las áreas de los compuestos problema (ver figura 4) (89,90).

-Estandarización: Durante este periodo se inyectaron las diluciones de los patrones el número de veces necesario para obtener un coeficiente de variación menor al 5%. De esta manera, se lograron inyecciones lo suficientemente similares para encontrar resultados estadísticamente repetibles.

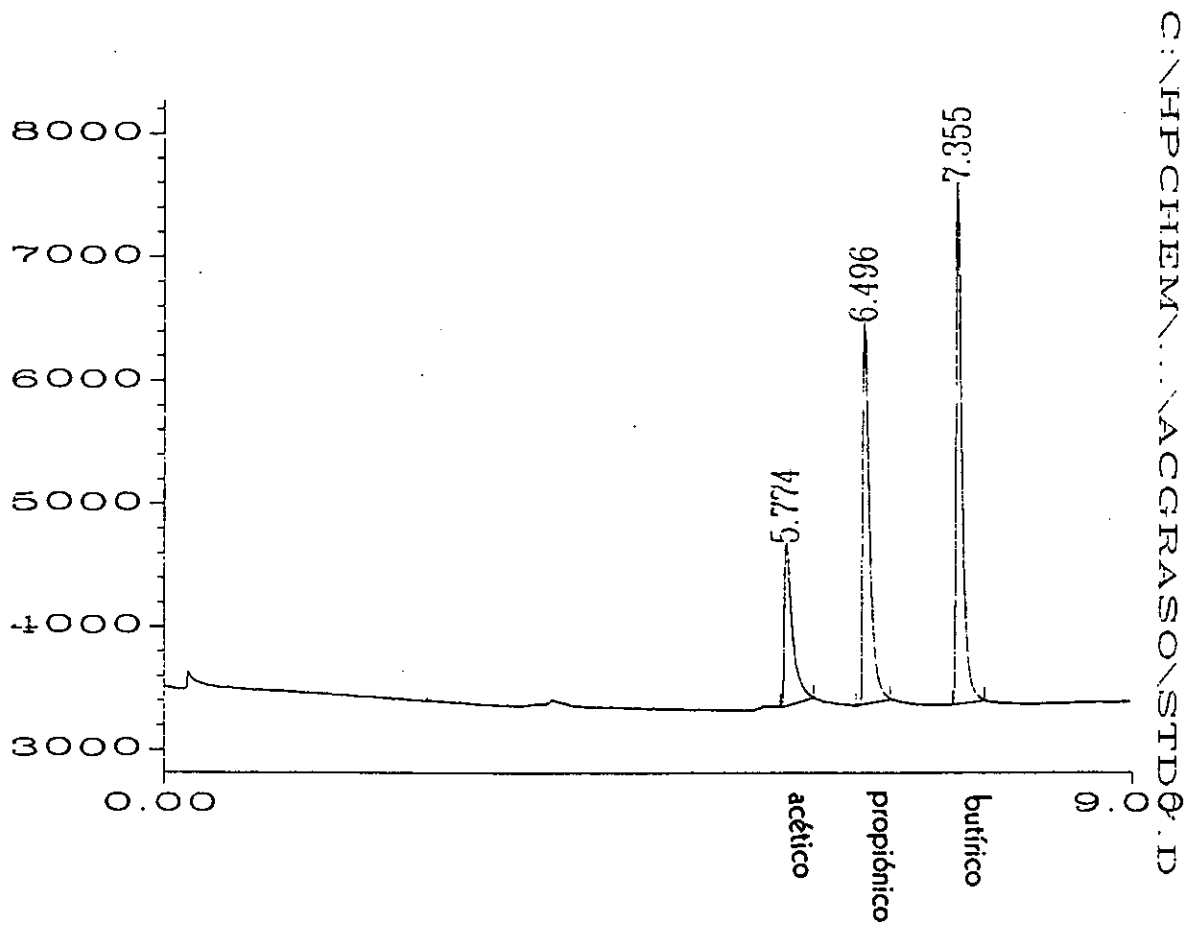
-Análisis de las muestras problema: Para analizar las muestras problema, se construyó una curva de calibración con seis concentraciones distintas de cada ácido a estudiar, con un adecuado coeficiente de regresión y se procedió al

análisis de las muestras. La concentración se calculó extrapolando con la curva de calibración, utilizando la fórmula para la recta.

5.2.3. ANALISIS ESTADISTICO

Para la interpretación de los resultados obtenidos se utilizó un diseño de cuadrado latino así como análisis de tendencia y pruebas de comparación múltiple de medias (Tukey y Duncan) para los valores encontrados en cada uno de los diferentes grupos (91,92).

FIGURA 4
CROMATOGRAMA OBTENIDO CON SOLUCIÓN PATRON
DE ACIDO ACETICO, PROPIÓNICO Y BUTIRICO
(dilución 1:1000)



5.3. ESTUDIO "IN VIVO" DE FERMENTACIÓN COLÓNICA

Este estudio se realizó utilizando la prueba de Hidrógeno espirado, pues como se mencionó anteriormente es un método no invasivo, de costo relativamente bajo, con alta sensibilidad y especificidad (56).

5.3.1. VOLUNTARIOS:

El estudio se llevó a cabo con 12 voluntarios que cumplieron los siguientes criterios de inclusión:

- Adultos que no hayan tomado antibióticos al menos dos meses antes de la fecha del estudio.
- No sufrir trastornos gastrointestinales de ningún tipo.
- No fumar.

A dichos voluntarios se les explicó claramente como se llevaría a cabo el estudio y los riesgos del mismo, que en realidad se redujeron a posibles trastornos gastrointestinales leves, como distensión abdominal o flatulencia.

5.3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL:

El estudio se dividió en siete periodos metabólicos, con una duración de 7 horas cada uno y un intervalo de al menos 48 h entre ellos para eliminar valores de concentración de H₂ provenientes del periodo anterior.

Durante el primer periodo se les administraron 10g de lactulosa. Como se mencionó anteriormente, este hidrato de carbono no se digiere y pasa íntegro al colon y se utilizó para ver si la flora colónica del voluntario estaba en buenas

condiciones para llevar a cabo las pruebas subsiguientes. Los sujetos que produjeron H_2 arriba de 20 ppm se definieron como "productores de H_2 " y fueron incluidos en los siguientes estudios; los voluntarios que no cumplieron este criterio fueron excluidos (78).

En los siguientes 5 periodos, se les administró a los voluntarios en forma aleatoria 10g de la fuente de fibra a estudiar. Para que en realidad, cada uno de ellos recibiera 10 g de fibra para poder hacer las comparaciones posteriores, las dosis que se administraron, según el contenido de fibra de las diferentes fuentes fueron:

FUENTE DE FIBRA	%DE FIBRA	DOSIS
Psillium plántago (PP)	87.3	11.5 g
Nopal deshidratado (ND)	55.1	18.3 g
Aislado de fibra de soya (AS)	68.8	14.5 g
Salvado de trigo (ST)	43.2	23.1 g
Glucomanan (GM)	83.4	12 g

Se pidió a los voluntarios que el día anterior a la realización de las pruebas consumieran una dieta carente de fibra dietética, adecuándola lo más posible a sus gustos y costumbres. Así mismo se les pidió que su último alimento lo ingirieran a las 19.00h para tener al menos 12 h de ayuno al inicio del estudio.

A las 07:00 AM se tomó la primera muestra de H_2 espirado en ayuno. Inmediatamente después se administró el substrato a estudiar junto con 100 g de melón.

Se tomaron muestras de H_2 cada media hora hasta completar 7 h que es el tiempo que dura el estudio.

Los voluntarios no tomaron absolutamente nada durante este periodo, excepto agua simple o café sin azúcar.

Se les administró un refrigerio a las 4 h de iniciado el estudio que consistió en un emparedado de jamón y queso con un vaso de jugo de manzana.

El contenido de fibra de los alimentos ingeridos durante el estudio es:

ALIMENTO	CANTIDAD	CONTENIDO DE FIBRA
melón	100 g	0.53 g
pan de caja blanco	2 rebanadas	1.8 g
jamón	1 rebanada	- -
queso manchego	30 g	- -
Jugo de manzana	240 ml	0.85 g
TOTAL		2.58 g (2)

El 7° periodo metabólico es el periodo TESTIGO, en el cual los sujetos consumieron los alimentos sin ningún substrato y se les aplicaron las mismas mediciones.

Al terminar cada periodo de estudio, se les aplicó a los voluntarios un cuestionario (ver tabla 10) para identificar los posibles síntomas que presentaron con el consumo de las diferentes fuentes de fibra dietética. Se les solicitó que indicaran la presencia o ausencia de síntomas y, de estar presentes, el grado de los mismos: leve, moderado o severo.

Se consideraron síntomas causados por la fermentación colónica de los substratos la distensión abdominal, cólico, sensación de saciedad y diarrea. El dolor de cabeza se consideró como ajeno completamente al estudio y se utilizó como distracción (77).

Se estimó en cada periodo, el tiempo entre la ingestión de la fibra dietética y la primer alza significativa de H_2 (un incremento de 5 ppm) como la llegada del substrato al colon, es decir el "tiempo de tránsito boca-colon". También se estimó el "tiempo del H_2 pico", que es el tiempo que tardó el substrato en llegar a su máxima fermentación.

Colección de muestras de aire espirado:

Se obtuvieron las muestras de aire por boca mediante una válvula de una salida, conectada a una bolsa de hule. La muestra se transfirió inmediatamente a las jeringas de plástico. Es necesario un sistema hermético para evitar pérdidas significativas de H_2 antes del análisis, el cual se realizó siempre en un periodo no mayor de 24 h (5). Las muestras se tomaron por duplicado.

5.3.3 CUANTIFICACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE HIDRÓGENO:

Para cuantificar el Hidrógeno espirado se utilizó la técnica de cromatografía de gases, usando un cromatógrafo Microlyzer (Quintron Instruments, Co. Milwaukee, WI.) con un sistema electroquímico de detección, especialmente diseñado para medir H_2 , con un medidor digital de panel fácil de operar y que detecta la cantidad mínima de 1 ppm separando el H_2 de otros gases, por su peso molecular. El instrumento fue estandarizado con un gas de concentración conocida de H_2 (104 ppm), utilizando como gas acarreador el aire del medio ambiente.

La concentración de hidrógeno en la muestra se determinó en forma directa, mediante una integración del área bajo la curva de hidrógeno excretado durante el periodo de análisis, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración de H}_2 = \frac{(T_0 - T_0) + (T_1 - T_0)}{2} + \frac{(T_1 - T_0) + (T_2 - T_0)}{2} \\ + \frac{(T_2 - T_0) + (T_3 - T_0)}{2} + \dots \dots \dots \frac{(T_{n-1} - T_0) + (T_n - T_0)}{2}$$

Donde:

T_0 = concentración de H_2 en ppm al tiempo cero (antes de tomar el substrato)

T_1 = Concentración de H_2 en ppm al final del 1° intervalo (30 min)

T_2 = Concentración de H_2 en ppm al final del 2° intervalo (60 min)

T_3 = Concentración de H_2 en ppm al final del 3° intervalo (90 min)

T_{n-1} = Concentración de H_2 en ppm al penúltimo intervalo

T_n = Concentración de H_2 en ppm al intervalo final (7 horas después)

El valor está expresado en ppm/h (93)

Si la concentración de H_2 a los 30 min de iniciado el estudio fue menor que la basal, ésta se utilizó como T_0 ya que si el voluntario tomó algún alimento rico en fibra dietética la noche anterior, esto se vio reflejado en sus niveles basales de H_2 espirado (94).

5.3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Para la interpretación de los resultados obtenidos en esta segunda parte del estudio, se utilizó análisis de varianza, por medio de un diseño de cuadrado latino (91,92).

TABLA 10

CUESTIONARIO UTILIZADO DURANTE LA PRUEBA DE HIDROGENO
ESPIRADO PARA IDENTIFICAR LA PRESENCIA DE POSIBLES SINTOMASNOMBRE _____
FIBRA ESTUDIADA _____

Por favor, conteste al presente cuestionario de la siguiente forma:

Si usted padeció durante el periodo de estudio alguno de los siguientes síntomas, escriba
junto al mismo el número: 1 cuando este síntoma se presentó levemente.

2 cuando el síntoma se presentó en forma moderada

3 cuando el síntoma se presentó fuertemente.

Escriba 0 cuando no se presentó el síntoma mencionado.

DISTENSION ABDOMINAL
(INFLAMACIÓN) _____

DOLOR DE CABEZA _____

DIARREA _____

COLICO _____

SENSACION DE SACIEDAD _____

OTRO (ESPECIFIQUE) _____

6.- RESULTADOS Y DISCUSION

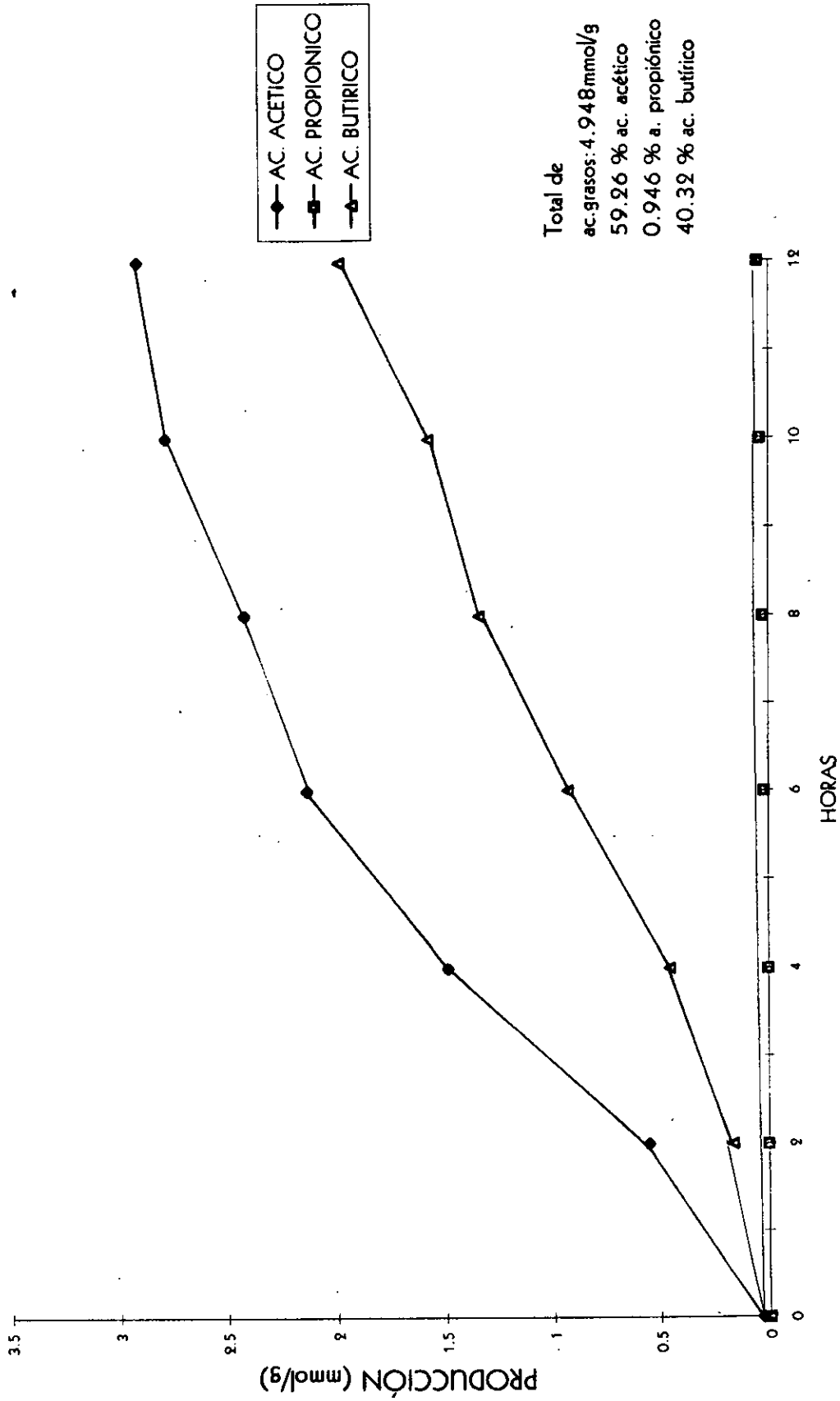
6.1.- ESTUDIOS DE FERMENTACION COLONICA "IN VITRO":

6.1.1.- PRODUCCION TOTAL DE ACIDOS GRASOS:

En las gráficas 1 a 5 se describe la fermentación colónica de las diferentes fuentes de fibra dietética a través del tiempo de fermentación "*in vitro*", los resultados obtenidos coinciden con estudios similares anteriormente realizados (24). Mortensen y colaboradores encontraron diferencias significativas en las tasas y las proporciones de producción de AGCC al comparar fibras solubles e insolubles (59), lo mismo sucedió con Mc. Burney, que además encontró diferencias significativas entre fibras provenientes de distintas frutas(19). En estudios anteriores, la ingestión de fibra aumentó significativamente la cantidad de AGCC en heces (48).

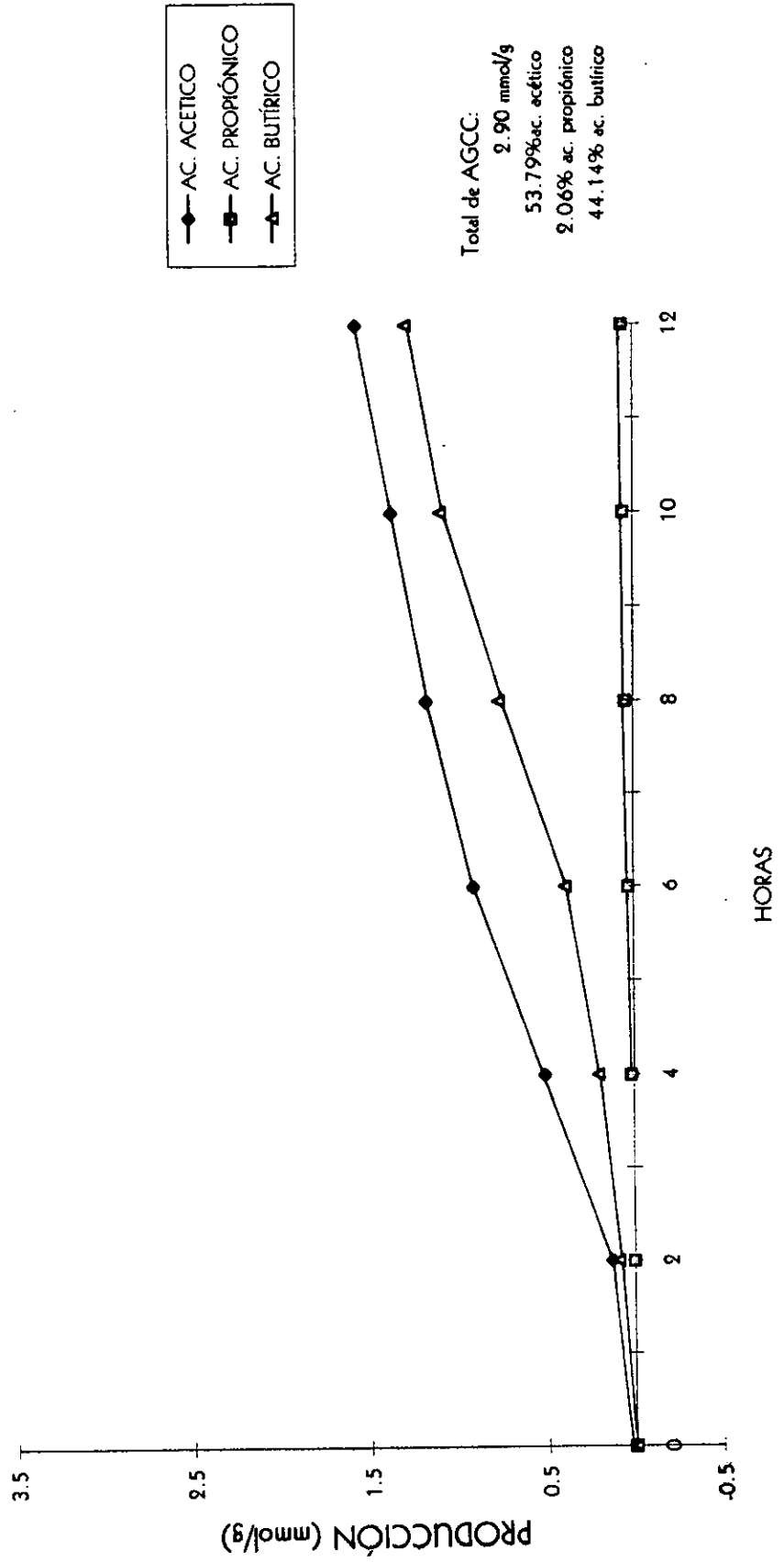
En el presente estudio se observa una producción mucho mayor de ac. acético que de los otros ácidos en todas las fibras, excepto en el ND -lo que también coincide con estudios anteriores- (13) y puede deberse a la capacidad que tiene la flora colónica para realizar fermentaciones acetogénicas (1). El ácido que se produjo en menor cantidad fue el propiónico.

GRAFICA 1
 PRODUCCION TOTAL DE AGCC DURANTE LA FERMENTACION "IN VITRO" DE PSILLIUM PLANTAGO (mmol/g muestra)



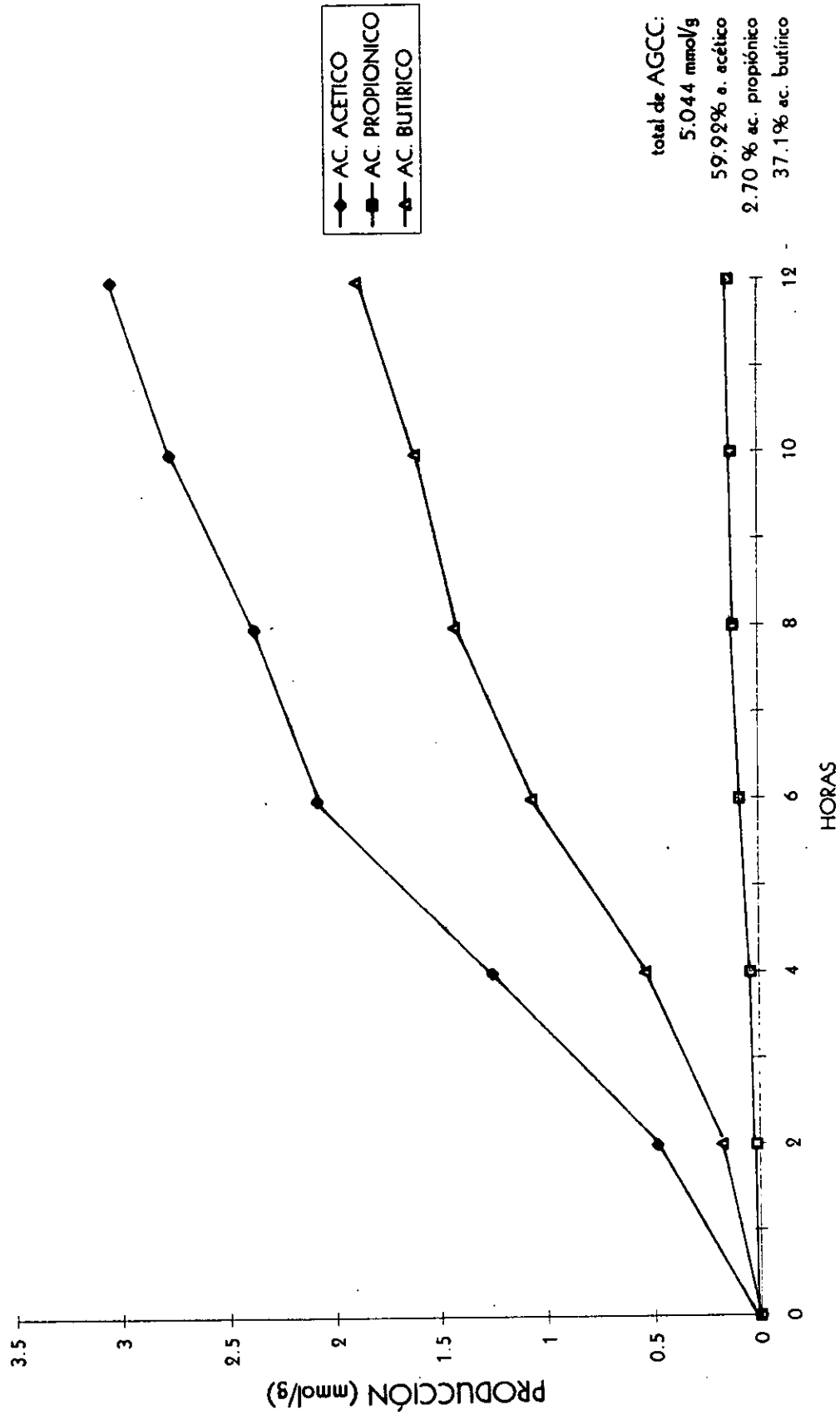
GRAFICA 2

PRODUCCION TOTAL DE AGCC DURANTE LA FERMENTACION "IN VITRO" DE SALVADO DE TRIGO (mmol/g muestra)



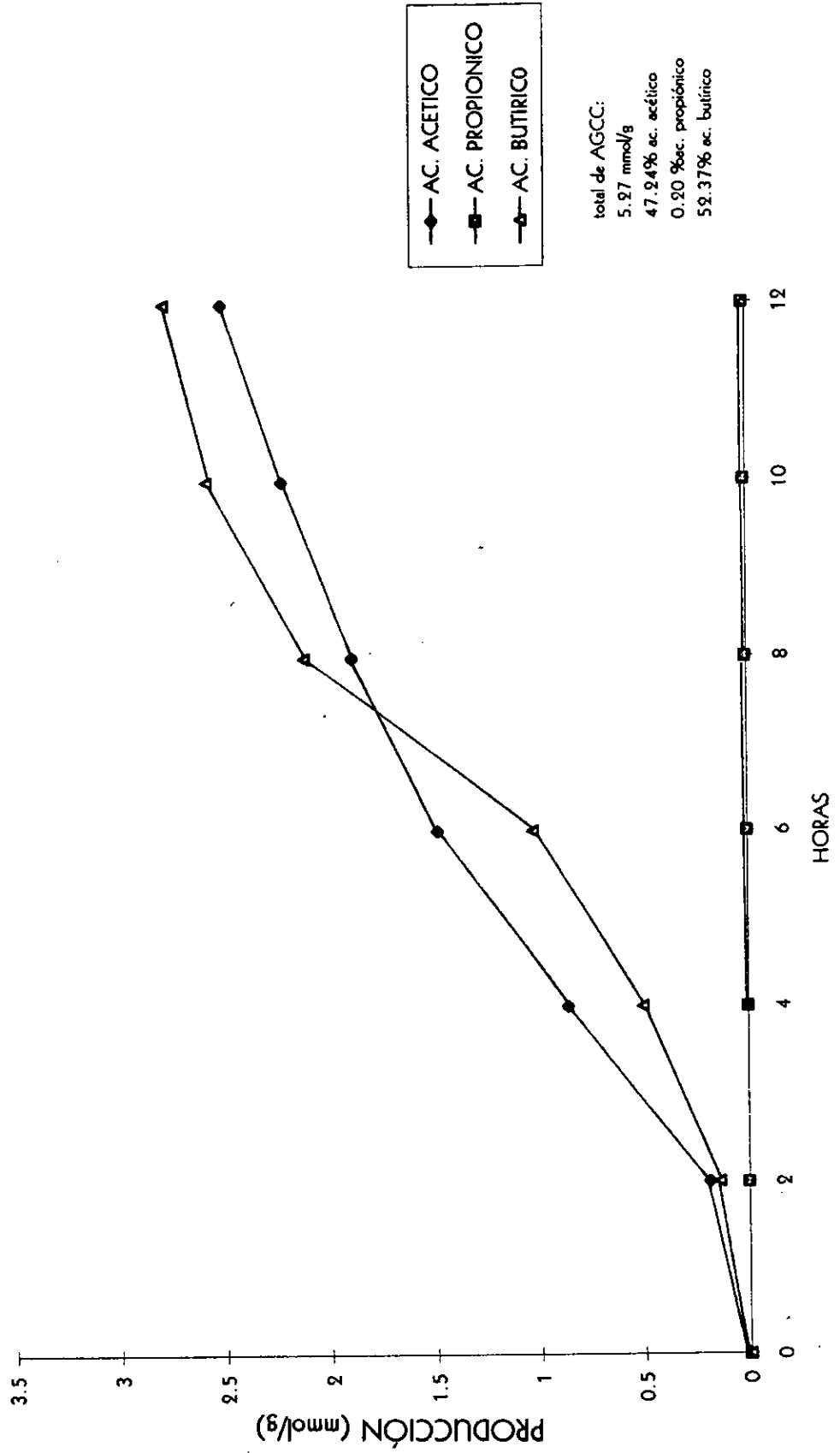
GRAFICA 3

PRODUCCION TOTAL DE AGCC DURANTE LA FERMENTACION "IN VITRO" DE GLUCOMANAN (mmol/g muestra)



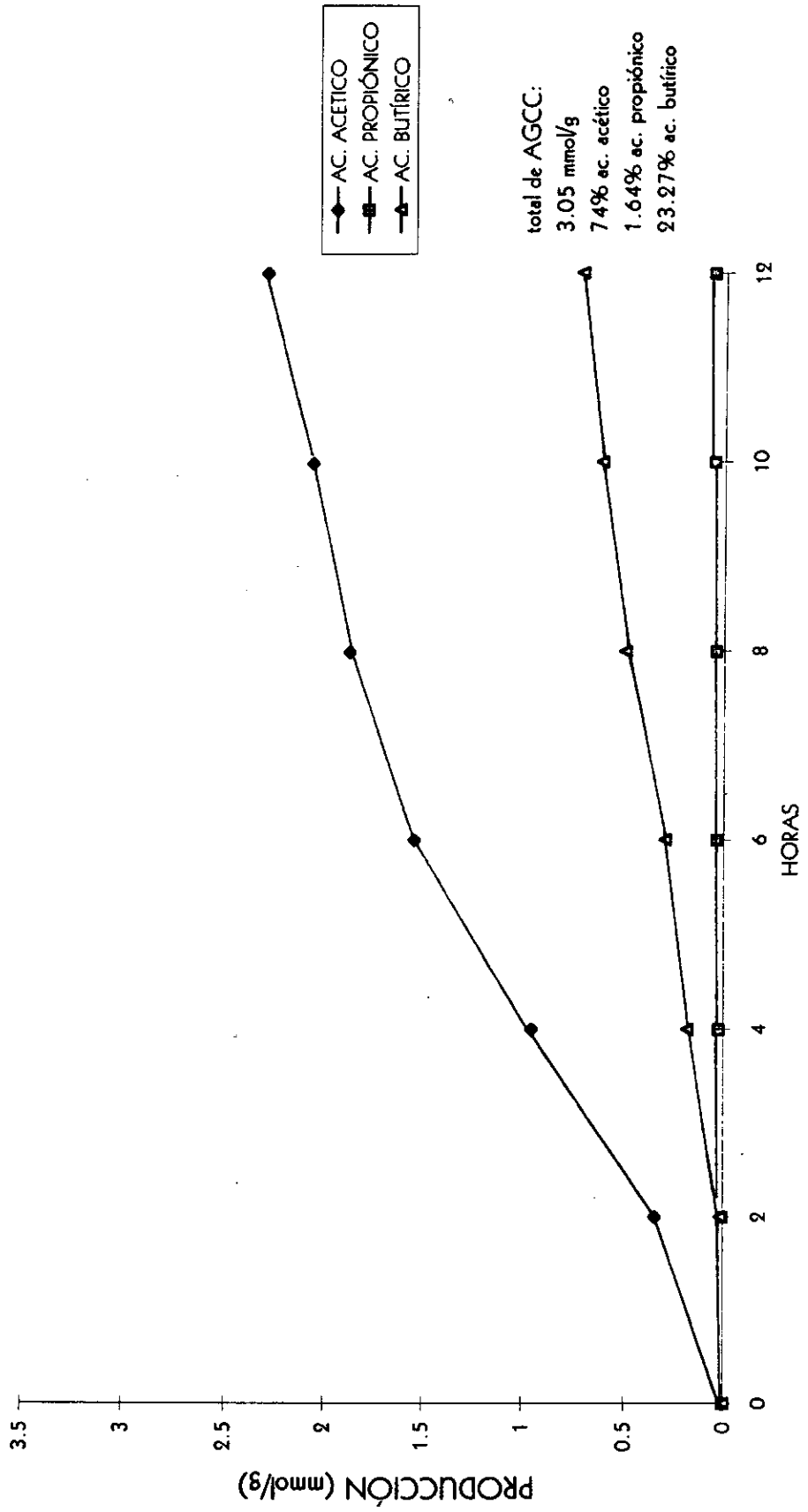
GRAFICA 4

PRODUCCION TOTAL DE AGCC DURANTE LA FERMENTACION "IN VITRO" DE NOPAL DESHIDRATADO (mmol/g muestra)



GRAFICA 5

PRODUCCION TOTAL DE AGCC DURANTE LA FERMENTACION "IN VITRO" DE AISLADO DE FIBRA DE SOYA (mmol/g muestra)



6.1.2.- PRODUCCION TOTAL DE ACIDOS GRASOS VOLATILES DURANTE LA FERMENTACION Y SU RELACION CON LA COMPOSICION QUIMICA DEL SUBSTRATO

Realmente, en el presente estudio se está midiendo el "potencial de fermentación" de estas fibras, pues el ensayo "in vitro" se hizo con la fuente de fibra, que en su composición química tiene también otros hidratos de carbono diferentes a la fibra que pudieron ser también fermentados durante la incubación (ver tabla 7). Estos, en el organismo humano, no llegan al colon ya que son absorbidos en el intestino delgado; por lo que se decidió hacer la comparación de los resultados obtenidos en base a tres criterios según la composición de las fuentes de fibra estudiadas:

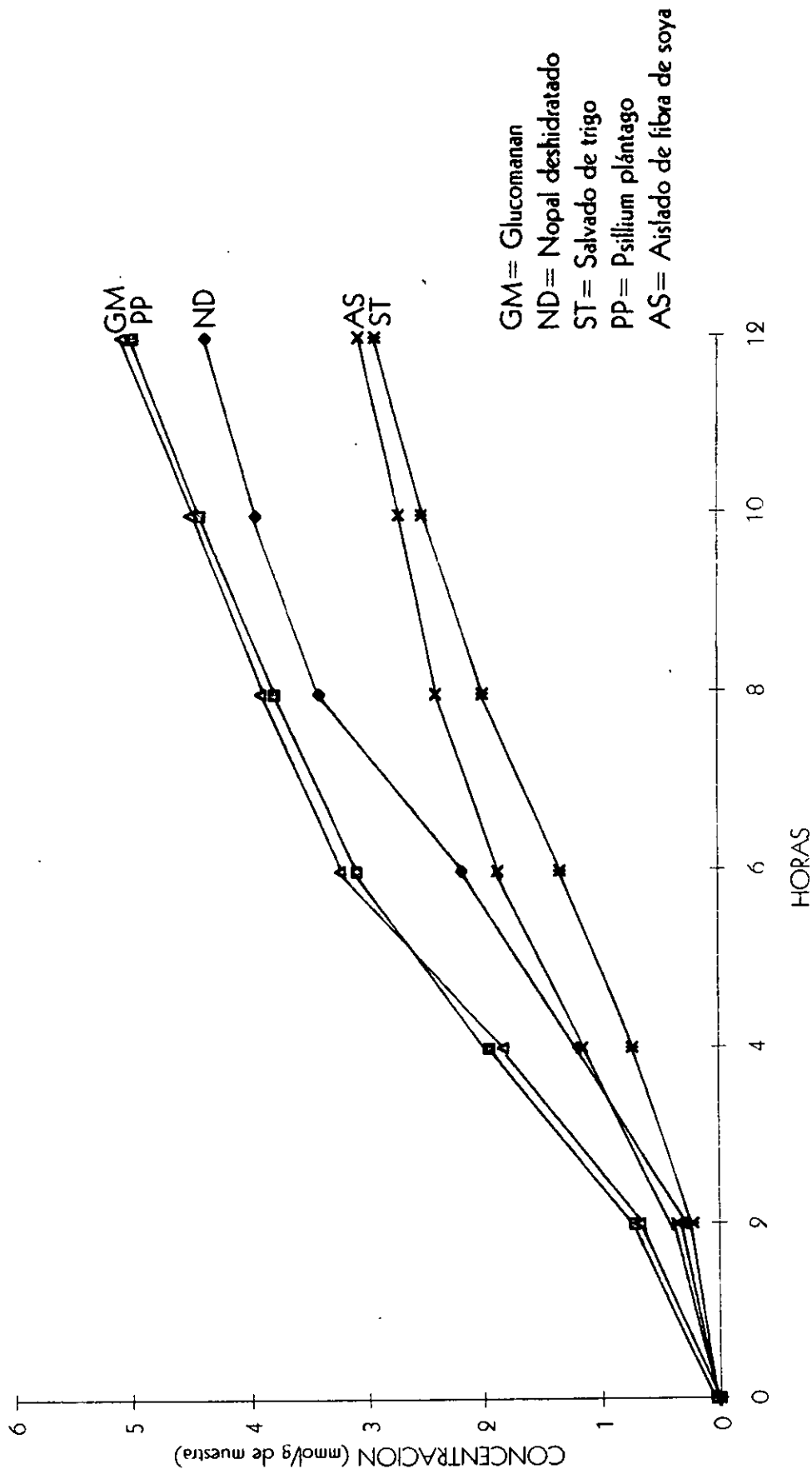
- Producción de ácidos grasos volátiles por gramo de muestra (ver gráfica 6)
- Producción de ácidos grasos volátiles por gramo de hidratos de carbono totales (ver gráfica 7)
- Producción de ácidos grasos volátiles por gramo de fibra (ver gráfica 8)

En la tabla 11 se observa la producción total de estos ácidos a las 12 h de fermentación tomando en cuenta los tres criterios utilizados. Para hacer el análisis estadístico se utilizó la fermentación a las 12 h ya que los resultados son acumulativos; de esta manera se obtiene la gráfica 9 en la que se observa en los tres parámetros un efecto altamente significativo ($p < 0.01$) del tipo de fibra presente. En ninguno de los tres grupos se observó efecto del donador.

Estos resultados nos permiten observar que la fermentabilidad es dependiente del tipo de las fibra dietética.

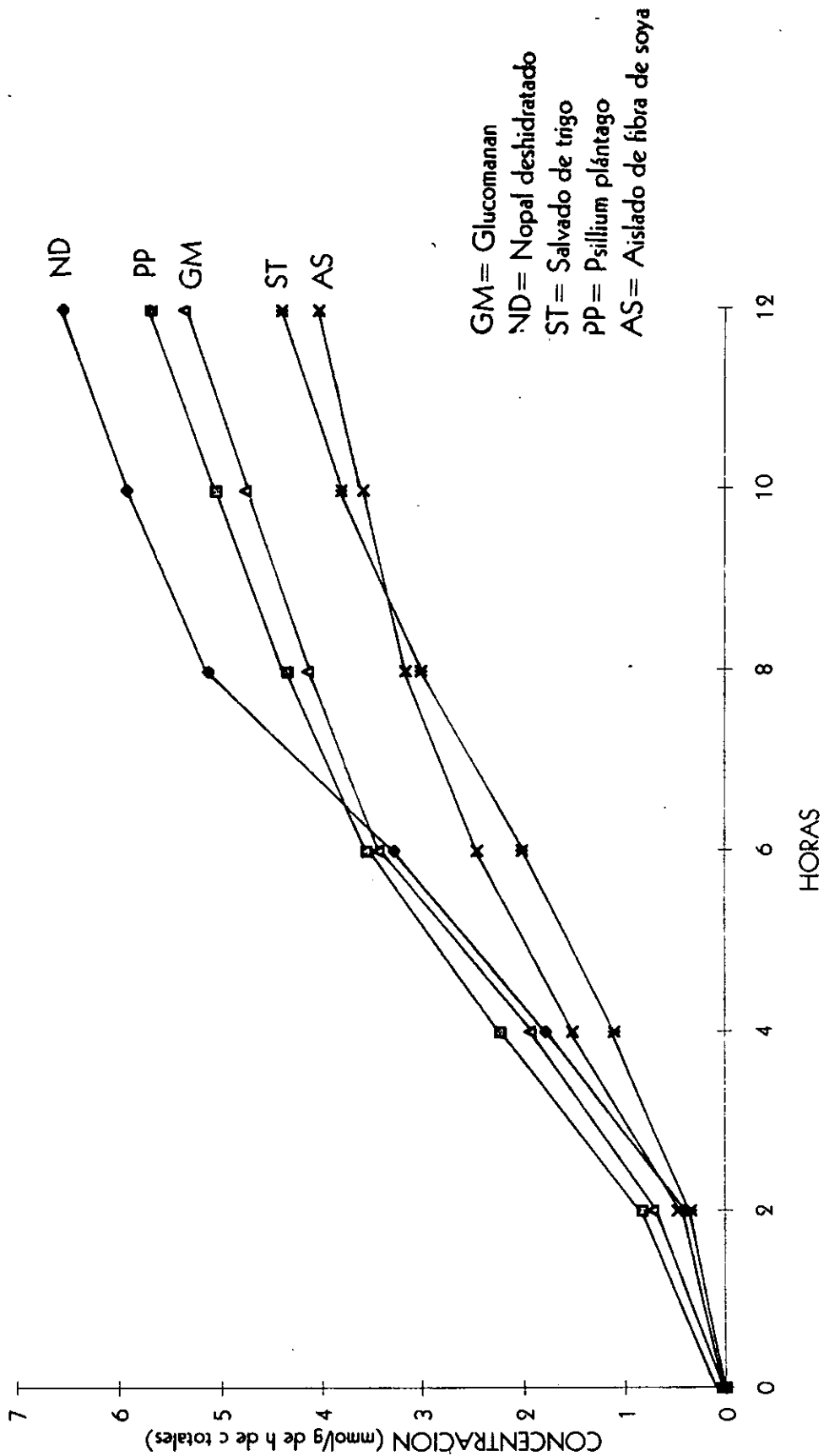
GRAFICA 6

PRODUCCION TOTAL DE ACIDOS GRASOS VOLATILES EN LA FERMENTACION COLONICA "IN VITRO"
DE LAS FIBRAS ESTUDIADAS (mmol/g muestra)



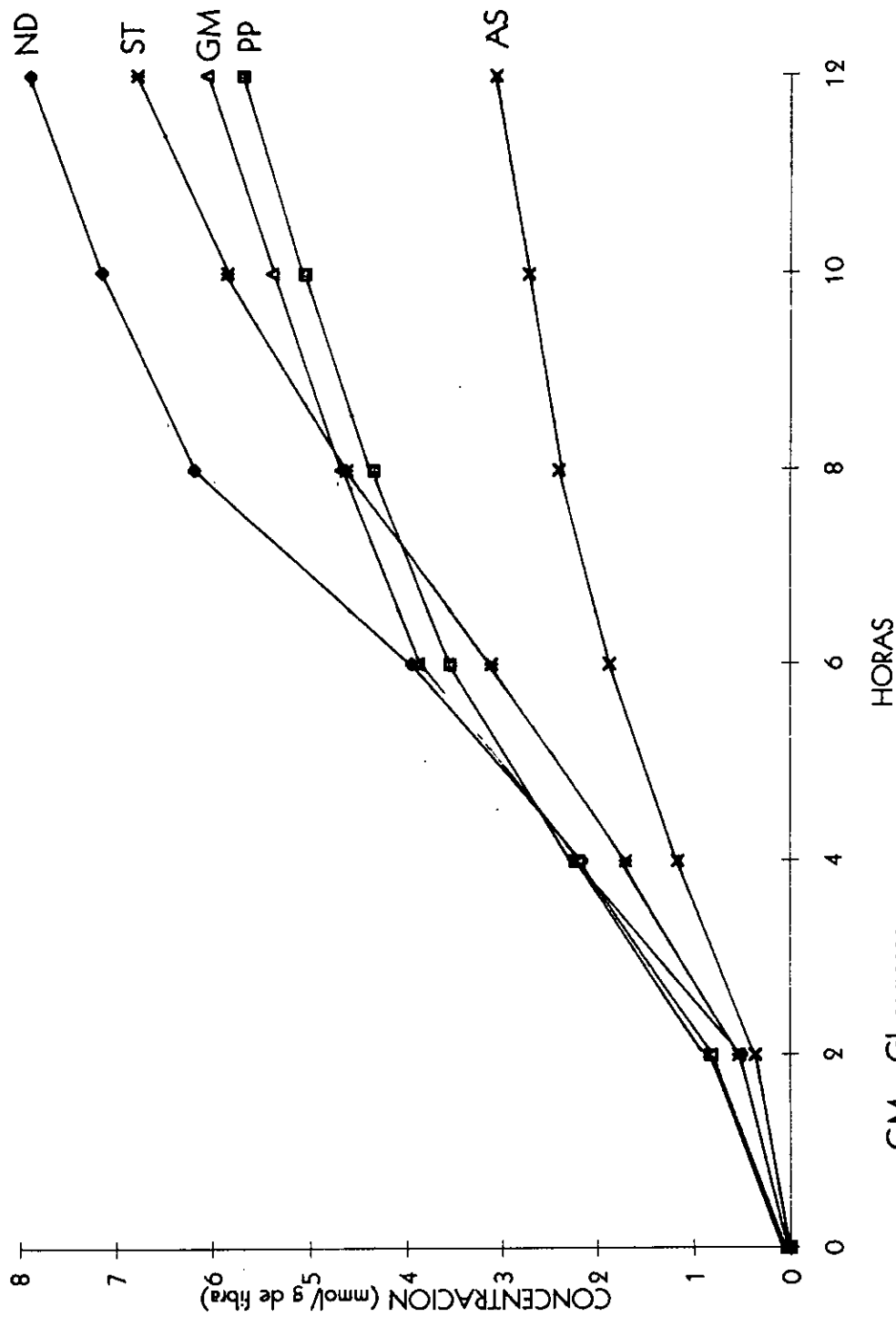
GRAFICA 7

PRODUCCION TOTAL DE ACIDOS GRASOS VOLATILES EN LA FERMENTACION COLONICA "IN VITRO"
 DE LAS FIBRAS DIETETICAS ESTUDIADAS
 (mmol/hidratos de carbono totales)



GRAFICA 8

PRODUCCION TOTAL DE AC. GRASOS VOLATILES EN LA FERMENTACION COLONICA "IN VITRO" DE LAS FIBRAS ESTUDIADAS (mmol/g fibra)



GM= Glucomanan
ND= Nopal deshidratado
ST= Salvado de trigo
PP= Psillium plántago
AS= Aislado de fibra de soya

TABLA 11

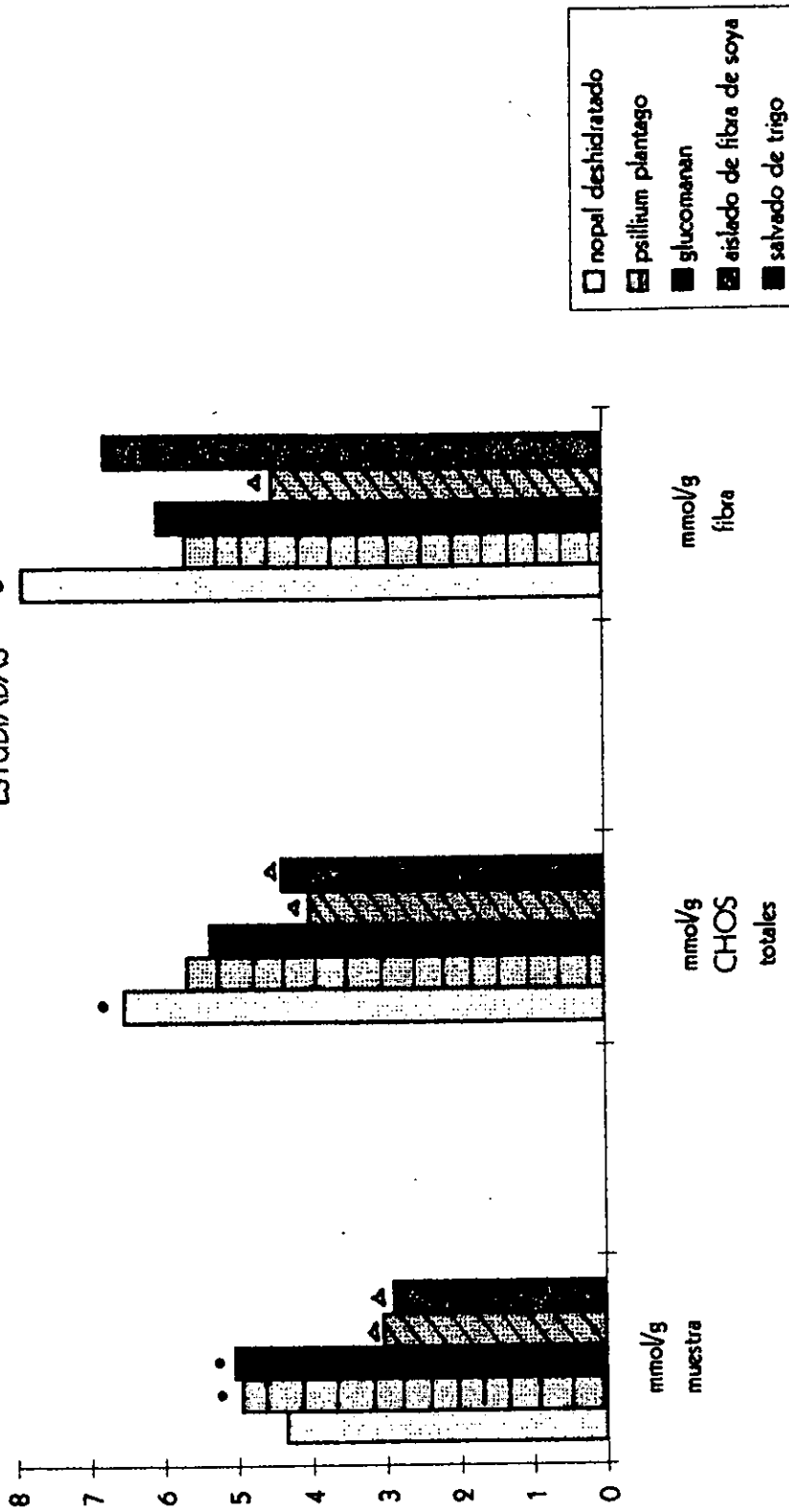
PRODUCCION TOTAL DE ACIDOS GRASOS VOLATILES EN LA
FERMENTACION COLONICA "IN VITRO"

TIPO DE FIBRA	mmol/g muestra	mmol/g h de c	mmol/g fibra
nopal deshidratado	4.34 ± 0.17	6.52 ± 0.26	7.88 ± 0.32
psillium plantago	4.95 ± 0.17	5.66 ± 0.2	5.67 ± 0.2
glucomanan	5.04 ± 0.12	5.34 ± 0.12	6.05 ± 0.14
aislado de fibra de soya	3.05 ± 0.19	4.01 ± 0.26	4.49 ± 0.28
salvado de trigo	2.91 ± 0.14	4.38 ± 0.21	6.76 ± 0.33

* los valores son el promedio D.E.

GRAFICA 8

PRODUCCIÓN TOTAL DE AC. GRASOS VOLATILES EN LA FERMENTACIÓN "IN VITRO" DE LAS FIBRAS ESTUDIADAS



existe efecto altamente significativo ($p < 0.01$) de composición química de substratos en los tres parámetros: mmol/g muestra: (●) mayor producción que los otros substratos, (◐) menor producción mmol/g h de c: (◑) mayor producción que los otros substratos (◒) menor producción mmol/g fibra: (◓) mayor producción (◔) menor producción.

Algunos autores utilizan en estudios similares tiempos de fermentación hasta de 24 h pero en ningún caso se observó aumento significativo con respecto a las 12 h de fermentación (55,59).

Bourquin y colaboradores encontraron diferencias significativas en las proporciones de AGCC producidos durante las fermentaciones "*in vitro*" con respecto a los donadores (45). Otros estudios "*in vitro*" coinciden con sus hallazgos, ya que han encontrado que las cantidades y los perfiles de los AGCC son influenciados por el donador(24). Los resultados obtenidos en el presente estudio difieren con ellos, pero coinciden con los de Mc. Burney, que concluye en uno de sus estudios "*in vitro*" que las heces humanas son lo suficientemente uniformes para evaluar las propiedades fermentativas de diferentes substratos (55).

Cuando los resultados se expresaron en mmol/g de muestra se encontró que el GM y PP presentaron mayor producción de AGCC que las otras fibras; el AS y ST presentaron los valores más bajos y el ND presentó valores intermedios. El ND fue la fuente de fibra que presentó mayor producción de AGCC por g de hidratos de carbono totales y por g de muestra; la interpretación de los datos podría hacer sospechar que además de la fibra dietética, el nopal contiene alguna otra sustancia fermentable y por lo tanto, capaz de mejorar la utilización celular de la glucosa. Estos resultados coinciden con otros anteriormente realizados con esta planta (5).

El salvado de trigo presentó resultados mayores cuando estos se expresaron en mmol/g de fibra con respecto a los otros dos grupos; esto es lógico de pensar, pues solo 43 de los 66g de hidratos de carbono que contiene son fibra dietética, los otros hidratos de carbono probablemente nunca se fermenten *in vivo*, porque son absorbidos en el intestino delgado antes de llegar al colon.

En comparaciones de estudios "in vitro", se ha observado que aunque el salvado de trigo es altamente insoluble, su fermentabilidad se aproxima a la de algunas fibras mas solubles, lo que puede deberse al contenido de hemicelulosa del mismo, ya que se ha demostrado que la hemicelulosa proveniente de cereales se fermenta en mayor grado que la proveniente de las paredes de verduras y frutas. Es necesario tener precaución al hablar genéricamente de la fibra dietética, ya que la fermentabilidad de algunas especies o fracciones de fibra dietética pueden ser similares, independientemente de que provengan de alguna hortaliza o provengan de algún cereal (48).

El glucomanan permaneció con valores de producción de AGCC altos en los tres parámetros esto coincide con el trabajo de Mc. Burney, et. al. que encontraron en sus experimentos que fibras altamente solubles (como la goma guar) produjeron significativamente mayor cantidad de ácidos orgánicos que fibras poco solubles (como el salvado de trigo) (88). Así mismo observó que la máxima fermentabilidad se produjo a las 12 horas.

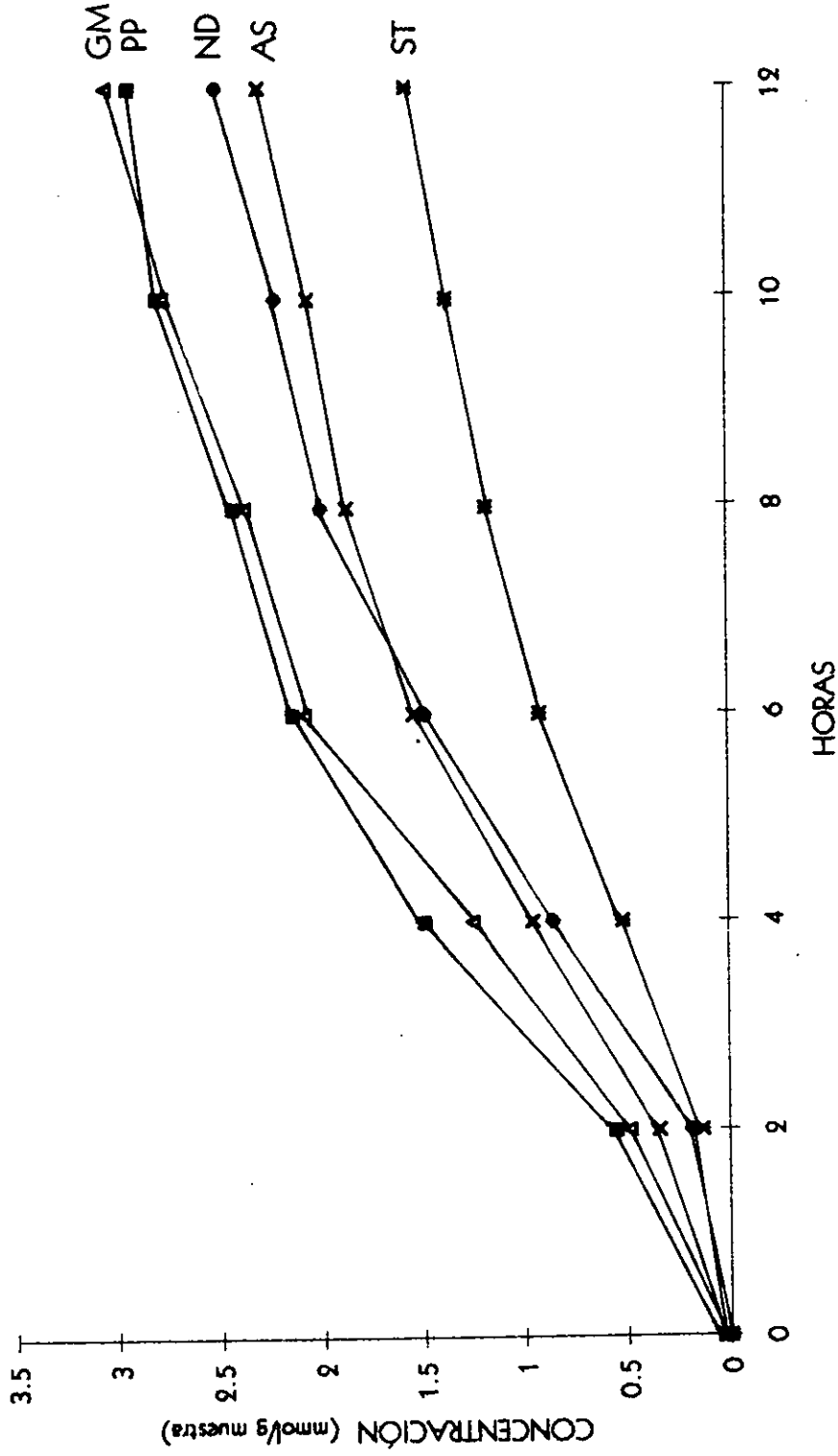
El AS fue el que presentó menor producción de AGCC en todos los casos.

6.1.3.- PRODUCCIÓN DE CADA UNO DE LOS ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES DURANTE LA FERMENTACIÓN:

En las gráficas 10,11y12 se describe la producción de los ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en las diferentes fuentes de fibra dietética durante las 12 horas de fermentación; en estas gráficas se puede observar que comienza a haber diferencias en cuanto a la producción de los ácidos acético y propiónico a partir de las 4 horas de fermentación. El ácido butírico presenta diferencias a partir de la sexta hora.

GRAFICA 10

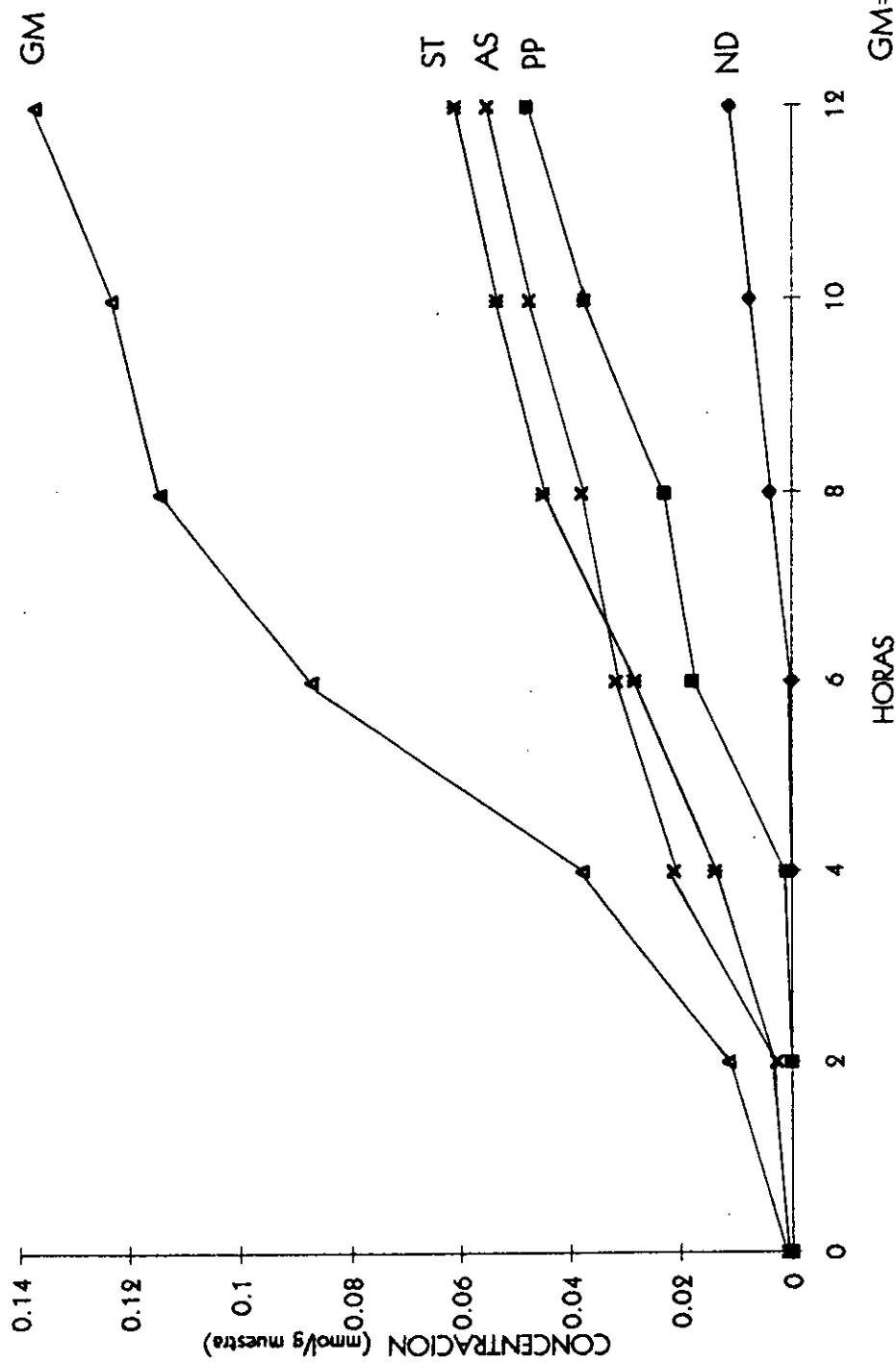
PRODUCCION DE AC. ACETICO EN LA FERMENTACION COLONICA 'IN VITRO' DE LAS FUENTES DE FIBRA ESTUDIADAS (mmol/g de muestra)



GM= Glucomanan
ND= Nopal deshidratado
ST= Salvado de trigo
PP= Psillium plántago
AS= Aislado de fibra de soya

GRAFICA 11

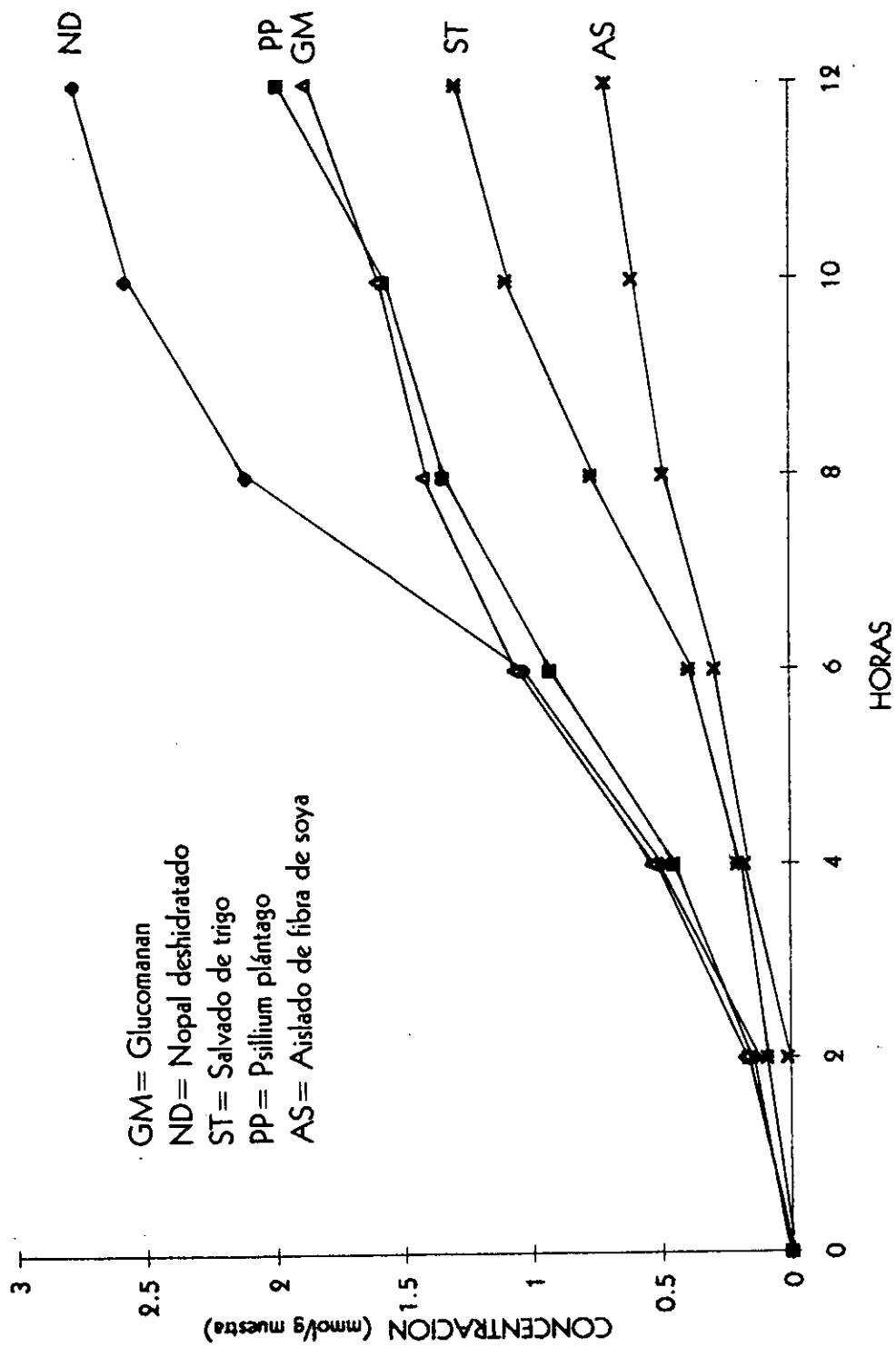
PRODUCCION DE AC. PROPIONICO DURANTE LA FERMENTACION COLONICA "IN VITRO" DE LAS
DIFERENTES FUENTES DE FIBRA (mmol/g muestra)



GM= Glucomanan
ND= Nopal deshidratado
ST= Salvado de trigo
PP= Psillium plántago
AS= Aislado de fibra de soya

GRAFICA 12

PRODUCCION DE AC. BUTIRICO DURANTE LA FERMENTACION "IN VITRO" DE LAS FUENTES DE FIBRA ESTUDIADAS (mmol/g muestra)



En la gráfica 13 se observa la producción total de ácido acético en los tres criterios analizados. Se encontró un efecto altamente significativo ($p < 0.01$) del tipo de sustrato sobre la producción por gramo de muestra y por gramo de hidrato de carbono. Cuando los resultados se expresaron por gramo de fibra, este efecto fue significativo ($p < 0.05$). Bajo ningún criterio se encontró efecto del donador.

El PP y el GM presentaron la mayor producción de ac. acético por gramo de muestra, el ND presentó una producción media, mientras que AS y ST la producción más baja. El ND presentó la mayor producción de ac. acético por gramo de hidrato de carbono y por gramo de fibra.

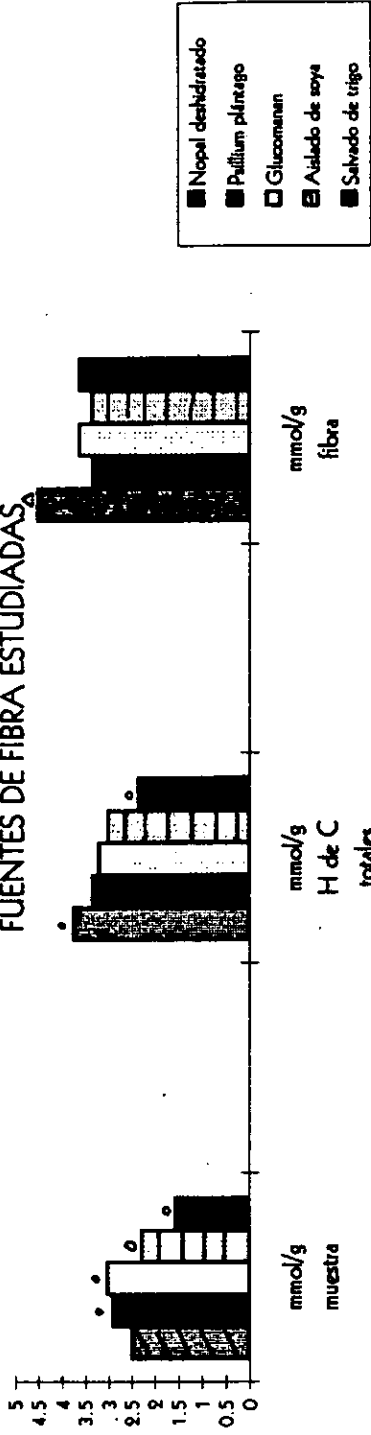
La gráfica 14 muestra la producción total de ac. propiónico durante la fermentación "in vitro" de cada una de las fuentes de fibra dietética.

Hubo efecto significativo ($p < 0.05$) del tipo de sustrato sobre la producción por gramo de muestra y por gramo de hidrato de carbono, siendo el de mayor producción el GM y el de menor producción el ND. Cuando los resultados se expresaron por gramo de fibra, se encontró efecto altamente significativo ($p < 0.01$) de composición del sustrato, siendo los de mayor producción el GM y el ST, la fibra que presentó la menor producción de ac. propiónico fue el ND.

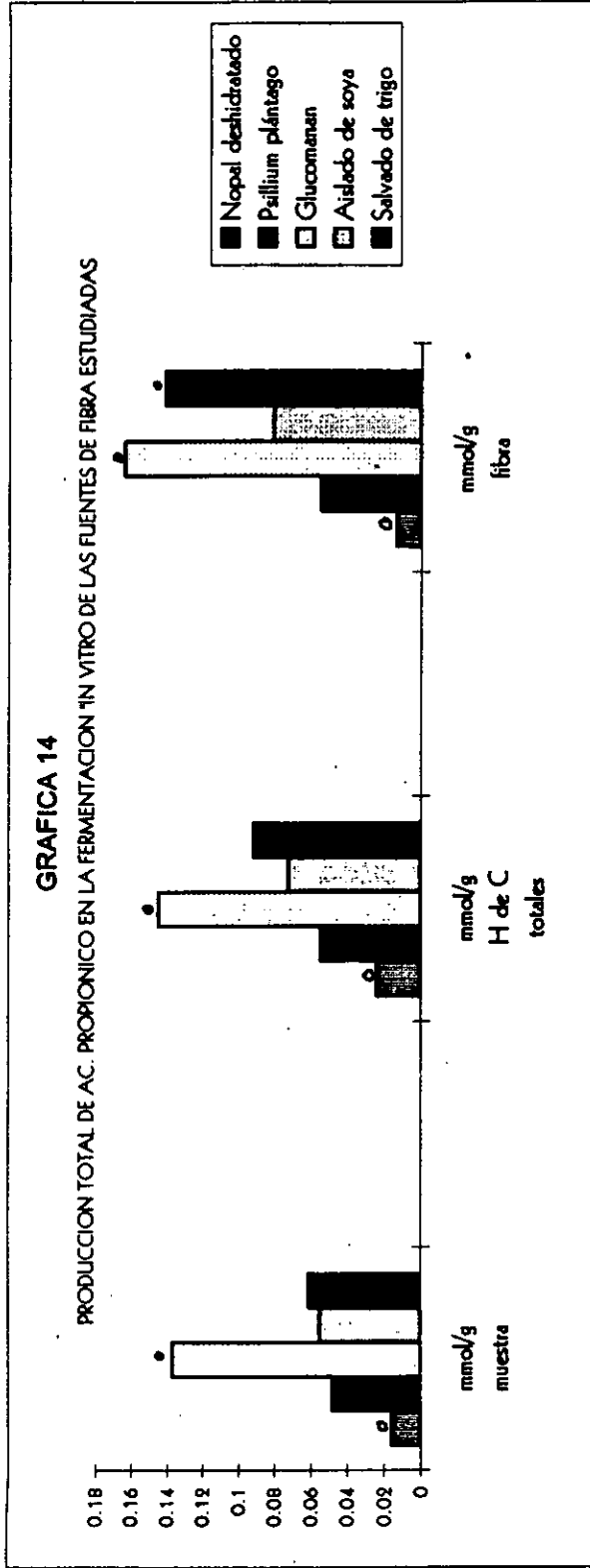
En la gráfica 15 se muestra la producción total de ac. butírico durante la fermentación según los tres criterios analizados; en todos se encontró un efecto altamente significativo ($p < 0.01$) del tipo de sustrato.

Tanto el ND como el PP y GM presentaron alta producción de butirato por gramo de muestra. La fibra que presentó la mayor producción de butirato por

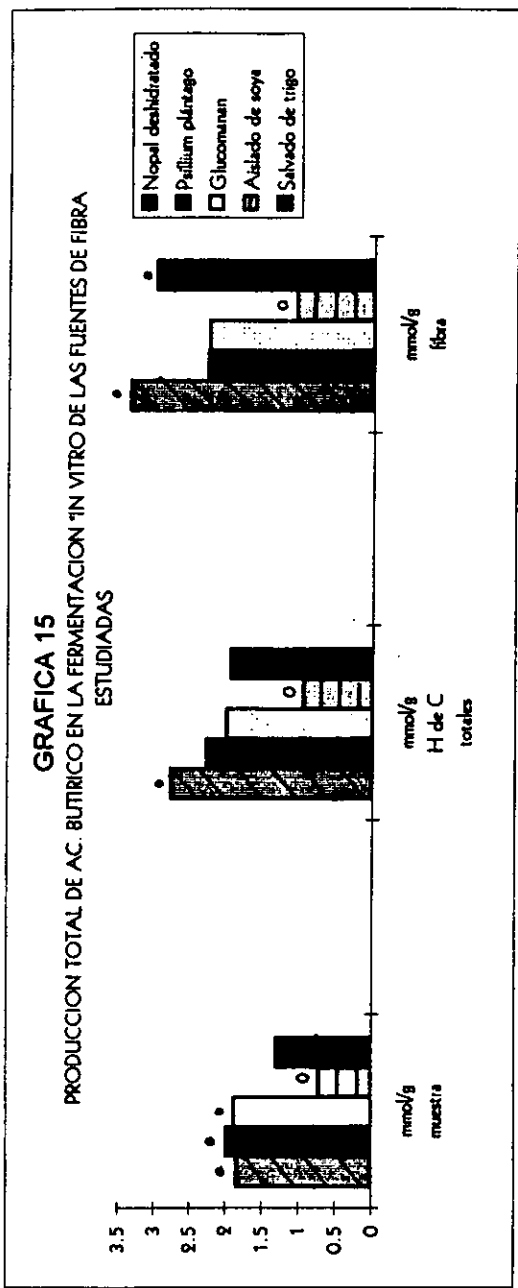
GRAFICA 13
 PRODUCCION TOTAL DE AC. ACETICO EN LA FERMENTACION "IN VITRO" DE LAS
 FUENTES DE FIBRA ESTUDIADAS.



- mayor producción en su grupo ($p < 0.01$)
- menor producción en su grupo ($p < 0.01$)
- ▲ mayor producción en su grupo ($p < 0.05$)



- mayor producción en su grupo ($p < 0.01$)
- menor producción en su grupo ($p < 0.01$)



○ menor producción en su grupo
 ● mayor producción en su grupo ($p < 0.01$)

gramo de hidrato de carbono fue el ND. La producción más alta por gramo de fibra la presentaron el ND y el ST. El AS presentó la menor producción de ácido butírico en los tres criterios analizados.

Según los resultados obtenidos, se encontró asociación entre el tipo y cantidad de ácidos producidos (acético, propiónico y butírico) y del tipo de sustrato. Por ejemplo: el ND tiene la más alta producción de ac. acético por gramo de hidrato de carbono y por gramo de fibra, por lo que se pronostica que puede ser útil para reducir la concentración de AGL en plasma y mejorar la respuesta glicémica. El salvado de trigo en cambio, no tiene ninguna relación con estos efectos atribuidos a la fibra dietética.

El glucomanan, por otra parte, fue la fibra dietética que produjo mayor cantidad de ac. propiónico por lo que parece ser la fibra más adecuada para inhibir la producción de glucosa, reducir colesterol en sangre y mejorar los factores de coagulación.

El ND produjo valores altos de ac. butírico, por lo que es el que mejor conserva la integridad de las células epiteliales colónicas y posiblemente mejora la absorción de sodio en el colon; se recomienda estudiar más ampliamente sus posibles propiedades antineoplásicas. Fibras como el PP y GM pueden ser útiles también para este respecto. El AS no presentará ningún efecto sobre los colonocitos, ya que su producción de ac. butírico fue muy baja.

Para los estudios "*in vitro*" de fermentación es conveniente utilizar como sustratos, materiales aislados de la pared celular, pues los sustratos que contienen gran cantidad de materia no proveniente de la fibra como almidón y proteínas, pueden dar resultados sobrestimados. Aunque puede haber problemas al utilizar estos materiales componentes de la pared celular intactos, ya que no es de esta manera como llegan al colon (45).

6.2.- ESTUDIOS DE FERMENTACION COLONICA "IN VIVO":

6.2.1.- RESULTADOS DEL ANALISIS:

En la gráfica 16 se observan las curvas de H₂ obtenidas en la prueba de hidrógeno espirado realizada con los 12 voluntarios en esta segunda parte del estudio.

De esta manera, se resumen en la siguiente tabla los tiempos de "tránsito boca-colon" y de "máxima fermentación" de los substratos estudiados:

TABLA 12

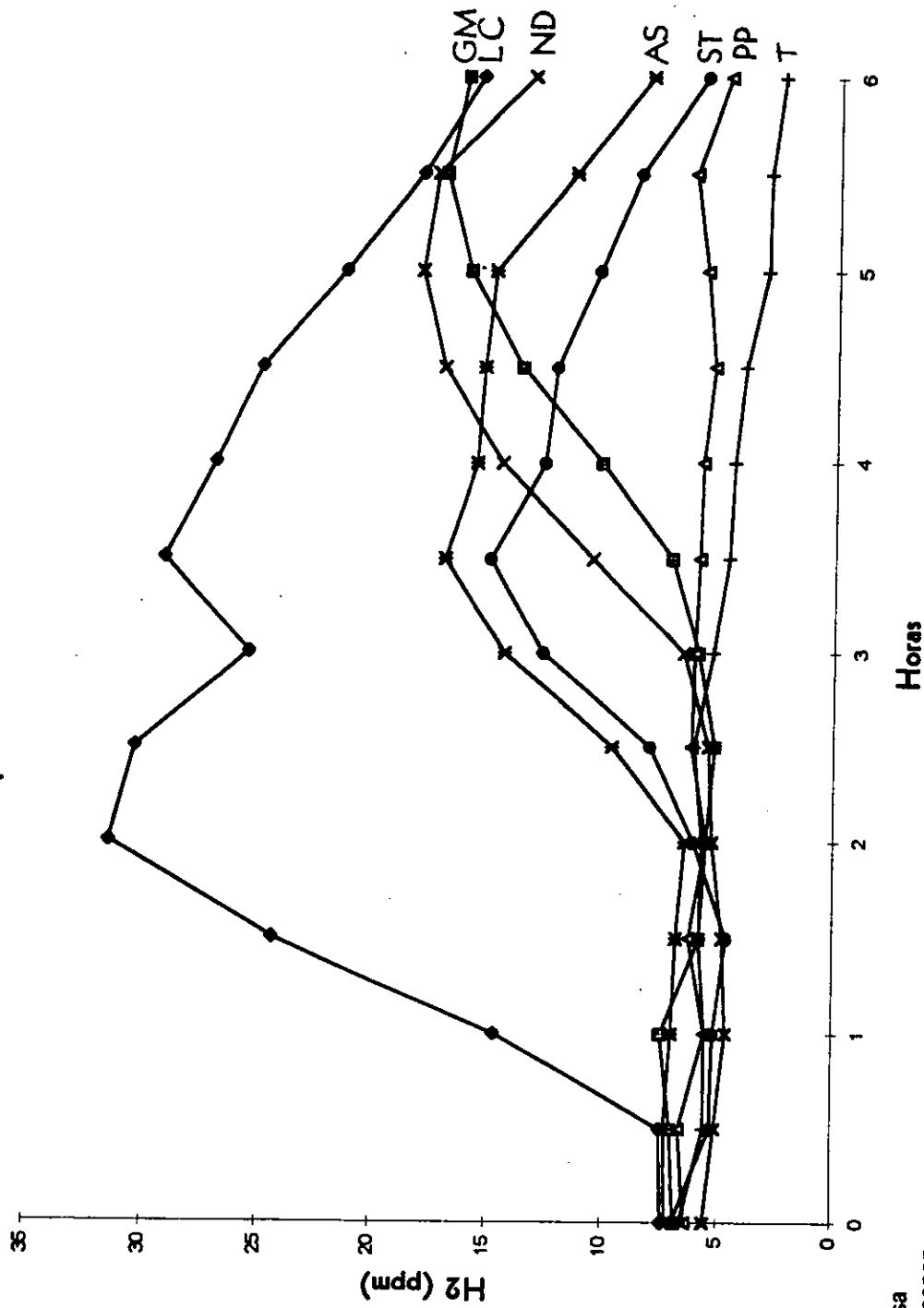
SUBSTRATO	TIEMPO DE TRANSITO BOCA-COLON (horas)	MAXIMA FERMENTACIÓN (horas)
n=12		
Lactulosa	1.2 ± 0.34	2.0 ± 0.80
Glucomanan	4.4 ± 0.70	5.5 ± 0.60
Psillium plántago	4 ± 2.17	5.5 ± 1.60
Nopal deshidratado	3.5 ± 0.45	5 ± 0.46
Aislado de fibra de soya	3 ± 0.80	3.5 ± 1
Salvado de trigo	3 ± 0.70	3.5 ± 0.70
Testigo	0.0	0.0

Solamente 3 de los 12 sujetos estudiados presentaron un alza significativa con el Psillium plántago, por lo que se obtuvo el promedio de esos tres sujetos.

La producción de H₂ se midió integrando el área bajo la curva de hidrógeno excretado; los valores medios y las desviaciones estandars se muestran en la gráfica 17.

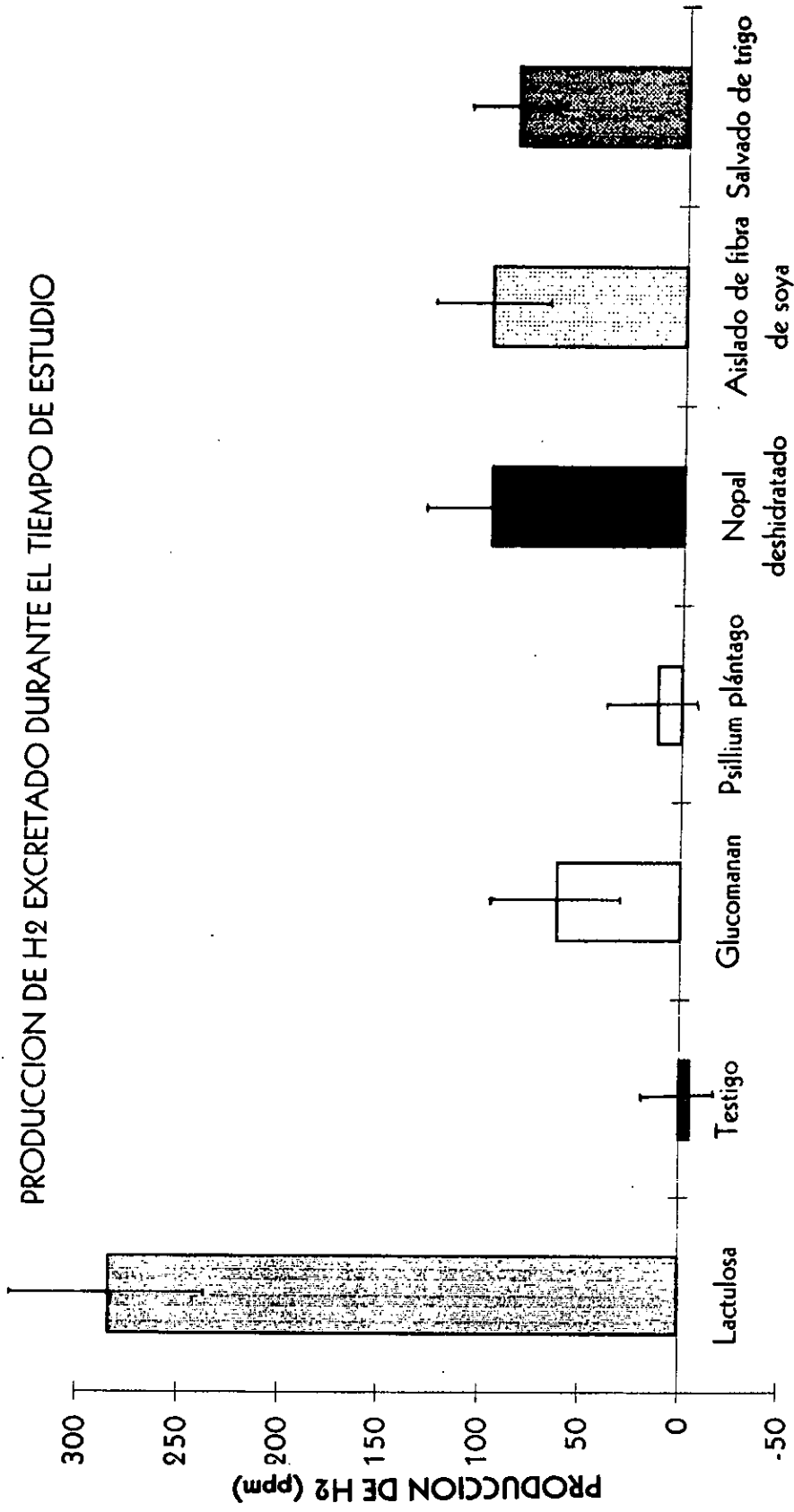
GRAFICA 16

PRUEBA DE H₂ PARA LAS DIFERENTES FUENTES DE FIBRA



LC=lactulosa
GM=glucomanan
PP= psillium plántago
ND=nopal deshidratado
AS= Aislado de fibra de soya
ST= salvado de trigo
T= testigo

GRAFICA 17



FUENTES DE FIBRA

□ = D.E. Se encontró diferencia altamente significativa ($p < 0.01$) tanto de la composición del sustrato como de donadores

En el análisis estadístico se observó que hubo diferencia altamente significativa entre las distintas fuentes de fibra dietética ($p < 0.01$) en la concentración de H_2 obtenida en el estudio "in vivo", siendo las de mayor concentración el ND y el AS. El PP fue la fibra que presentó menor producción de H_2 durante periodo de prueba. También se observó diferencia altamente significativa entre donadores.

Aunque el ND tiene en su composición química 11g de hidratos de carbono que no provienen de la fibra dietética y que, tal vez en vivo podrían no ser fermentados, en el estudio "in vivo" fue la fuente de fibra dietética que produjo mayor cantidad de H_2 , por lo que podemos afirmar que es una fibra altamente fermentable. El ST también presentó valores altos de concentración de H_2 .

En los estudios "in vivo" de fermentación colónica, los resultados obtenidos indican diferencias altamente significativas en los tiempos de tránsito boca-colon y los tiempos de máxima fermentación; estos datos coinciden con estudios anteriores, donde fibras como el salvado de trigo y la rafinosa produjeron un alza significativa de H_2 2-3 horas después de ser consumidos, mientras que la avena presentó un incremento hasta las 5 h después de su consumo (95). También Flatz encontró amplia variabilidad en los tiempos del pico de Hidrógeno (94). Raganathan y col. encontraron que la fibra dietética tiene valores mucho menores de producción de H_2 y tiempos de tránsito boca-colon mayores que la lactulosa (8). Estos resultados también coinciden con los obtenidos por Norgaard y col. en los que la lactulosa permaneció tres veces menos tiempo que los polisacáridos estudiados (49).

Además de los polisacáridos, otros constituyentes de la dieta (como grasas y proteínas) pueden retardar el tránsito intestinal. Como se muestra en la tabla 12 la concentración máxima de H_2 ocurre dos horas después en las fibras dietéticas que en la lactulosa, esto puede deberse a la matriz en la que éstas se encuentran (79). Se encontró diferencia significativa en cuanto a los tiempos de

tránsito boca-colon que presentaron los voluntarios, estas diferencias pueden deberse a la motilidad intestinal de los sujetos, también se ha visto que las mujeres presentan mayores tiempos de tránsito intestinal que los hombres (20), como en este estudio hubo voluntarios de ambos sexos, también esto pudo influir en la alta variabilidad encontrada.

Normalmente se presenta una concentración de H_2 basal elevada, con tendencia a bajar durante las horas consecutivas(56). Sujetos con excreción alta de H_2 a nivel basal presentan fuertes problemas en el diagnóstico (94). A los voluntarios que presentaron concentraciones de H_2 iniciales muy altas, se les preguntó la hora y el contenido del último alimento consumido el día anterior; en su mayoría, estos sujetos habían cenado alimentos con alto contenido de hidratos de carbono fermentables. Aunque a todos los voluntarios se les pidió que ingirieran una dieta carente de fibra el día anterior, algunos de ellos no hicieron caso y esto se vio reflejado en los niveles basales de H_2 . En los casos en los que la concentración de H_2 a los 30 minutos de iniciado el estudio fue menor que la basal, ésta se tomó como la concentración al tiempo cero, para el cálculo del área bajo la curva de Hidrógeno excretado. Algunos investigadores como Hammer no tuvieron en sus estudios de H_2 espirado restricciones con respecto a la dieta del día anterior (86).

En algunos sujetos se presentó un alza de H_2 durante la primera hora de iniciado el estudio, que pudo deberse a la falta de higiene bucal en los voluntarios o a que la noche anterior ingirieron alimentos ricos en fibra dietética, como lo señalan Mastropaolo y colaboradores (81).

Se encontraron diferencias altamente significativas en la producción de H_2 que presentaron los voluntarios, las cuales pueden ser el reflejo de diferencias en el metabolismo colónico; que a su vez puede deberse a las diferencias en la

dieta de los sujetos estudiados. Se ha observado que dietas altas en grasa tienen impacto significativo en la función metabólica de las bacteria colónicas, las diferencias entre el H_2 de la respiración pueden indicar también diferencias en la movilidad colónica debida a la edad o a la administración de diferentes medicamentos (78).

En algunos sujetos se observa producción muy baja de H_2 , lo cual pudo deberse a la metabolización de este gas en el colon o a la incapacidad de la flora bacteriana para la producción del mismo (80).

Bond encontró extrema variabilidad en la producción de H_2 espirado en los sujetos que estudió, lo que coincide con los resultados del presente estudio. Varios ensayos anteriormente realizados para evaluar la excreción de H_2 después del consumo de fibra dietética han presentado resultados conflictivos lo cual puede explicarse en parte por las diferencias encontradas en la fermentabilidad de las diferentes fibras probadas (12).

La tasa de acumulación de gas que se presenta después de la ingestión de polisacáridos poco absorbibles presenta una variabilidad interindividual muy alta; esta puede ser la explicación de las diferencias encontradas en pacientes con dietas de alto contenido de fibra dietética; cuando la tasa de acumulación es alta, la absorción colónica de gas es inefectiva, lo que produce mayor acumulación de gas después del consumo de fibra dietética y, a su vez, menor absorción del mismo. Las diferencias interindividuales en la acumulación de gas son causadas principalmente por las diferencias interindividuales del metabolismo bacteriano colónico y no por la tasa de absorción o el tiempo de tránsito intestinal (87), Southgate y col. encontraron variación individual en la digestibilidad de las fibras probadas (32). A pesar de esta variabilidad, la prueba de H_2 espirado es adecuada para la evaluación de grupos (72). La producción de H_2 es dependiente del pH, por lo que sujetos con dieta normalmente alta en fibra producen menores cantidades de H_2 , ya que posiblemente hay acidificación del colon(54). Otros estudios han encontrado

diferencias entre individuos en cuanto a la magnitud de la fermentación colónica tanto "*in vivo*" como "*in vitro*"(24).

Los incrementos obtenidos en las concentraciones de H₂ después del consumo de las diferentes fibras fueron bajos comparados con las concentraciones obtenidas a partir de la lactulosa. Esto coincide con resultados obtenidos por Tadesse y Eastwood, que no encontraron incremento en la excreción de H₂ en estudios con celulosa y lignina, así mismo, no se encontró incremento significativo ni con maíz, ni con trigo, lo que indica que el análisis del H₂ espirado puede subestimar la fermentación colónica de la fibra dietética, y concluyeron que la prueba del H₂ espirado es de valor limitado para comparar dietas mixtas (47). Otros investigadores como Raganathan y col. obtuvieron también en estudios hechos con fibras dietéticas, solo pequeñas alzas de H₂ que indicaron un moderado grado de fermentación (8).

Experimentos hechos con goma arábica han mostrado que es necesario un periodo de ingestión para desarrollar evidencia de fermentación en estas fibras, ya que en exposiciones agudas puede no resultar dicha evidencia (6), tal vez sea necesario un periodo de adaptación con la ingestión diaria de la sustancia a probar (9).

El estudio "*in vivo*" fue complementario del estudio "*in vitro*" y no solo se utilizó para determinar fermentabilidad de las diferentes fuentes de fibra; variables como saciedad, cambios en el vaciamientos gástrico y retraso en la absorción de algunos nutrimentos, pueden medirse eficazmente a través del tiempo de tránsito boca-colon, por lo que esta prueba es la más conveniente.

Tomando a la lactulosa como marco de referencia para medir la fermentabilidad de las fibras dietéticas estudiadas "*in vivo*", se observó que el glucomanan (GM) solamente fermentó 21.7%; el nopal deshidratado (ND) un 35.8%,

el aislado de fibra de soya (AS) y salvado de trigo (ST) 33% y 29% respectivamente, el psilium plántago (PP) solo un 4% (ver gráficas 16 y 17). Aunque aparentemente el AS y ST presentan altas concentraciones de H₂, en comparación con otras fibras más solubles, en la curva de concentración de H₂ vs tiempo estas dos primeras fibras llegan a su máxima fermentación antes que las otras, y a las 6 horas, cuando el estudio terminó, sus valores habían bajado y se acercaban a los basales; en cambio, fibras como ND y GM parecen estar en plena fermentación al agotarse el tiempo de estudio, por lo que tal vez este periodo no fue suficiente para completar la fermentación de estas fibras. Aunque Hammer (86) y Solomons y col. (56) recomiendan un periodo de tiempo de estudio de 6 h, si se estudia la mala absorción de polisacáridos complejos, este periodo posiblemente debe aumentar al menos hasta las 12 h, ya que parece ser que las fibras solubles en agua permanecen más tiempo en el colon y durante este tiempo continúa su fermentación.

El tiempo de tránsito en el colon del AR, que tiene características similares a la celulosa, es de 5 a 11 h, la pectina presentó un tiempo de 12-16 h después de la ingestión y con otras fibras viscosas se encontraron patrones similares(76).

El PP solamente presentó un alza significativa en concentraciones de H₂ a lo largo del periodo de estudio en 3 de los 12 voluntarios, pero puede considerarse que el tiempo de estudio fue corto como para afirmar que esta fibra - que en su mayoría es insoluble - no se fermenta, pues en los estudios realizados "*in vitro*" los valores de producción de AGCC no fueron tan bajos.

Para saber si existe o no relación entre la concentración de AGCC producidos durante la fermentación "*in vitro*" y la concentración de H₂ obtenida en los estudios "*in vivo*", se obtuvo el coeficiente de correlación de estas dos variables que fue de 0.3, lo que indica que no hay relación entre ellas. Los resultados en el presente estudio coinciden con los hallazgos de Norgaard y colaboradores que no encontraron asociación entre excreción de H₂ y fermentación

colónica de diversos polisacáridos (la fermentación la midió como producción de SCFA en heces)(49). En estudios anteriores, se observó que la suplementación de 5.2 g de glucomanan produjeron dolor abdominal y diarrea (29); en el presente estudio menos del 20% de los voluntarios presentaron diarrea y el 50% una leve distensión abdominal y dolores cólicos. Las diferencias interindividuales en cuanto a síntomas que presentaron los diferentes pacientes pueden deberse a las distintas tasas de acumulación de H₂ en el colon (86).

Los síntomas de flatulencia que presentaron algunos voluntarios en las pruebas realizadas con el glucomanan y la lactulosa pueden deberse a la acumulación de gas que se presenta cuando la absorción del mismo es menos eficiente. Habría que investigar si había un exceso de gas en el colon, por lo que la tasa de absorción bajó ya que, teóricamente, si la alta capacidad absorptiva de gas del colon en condiciones basales está perturbada, el gas colónico se puede acumular aún sin una administración excesiva de substrato fermentable (87).

Se evaluó la correlación entre el contenido de fibra, la solubilidad, la viscosidad y la capacidad de retención de agua de las fuentes de fibra estudiadas con la producción de AGCC, el tiempo de tránsito intestinal (TTI) y el tiempo de máxima fermentación (TMF) que se obtuvieron en el presente estudio. El único parámetro que presentó correlación altamente positiva con los resultados obtenidos fue la capacidad de retención de agua, (ver tabla 13) lo que nos indica que esta variable afecta directamente la velocidad de tránsito en el estómago e intestino, y la fermentabilidad de la fibra dietética, por lo que sería interesante estudiar esta propiedad fisicoquímica a fondo.

Definitivamente, las características fisicoquímicas de la fibra -principalmente su capacidad de absorción de agua- influyen en el proceso digestivo y de absorción del cuerpo humano; lo que a su vez causa diversos efectos. Para fines epidemiológicos, es recomendable agrupar a la fibra dietética en soluble e insoluble. Más aún, si se requiere hacer recomendaciones de fibra para un

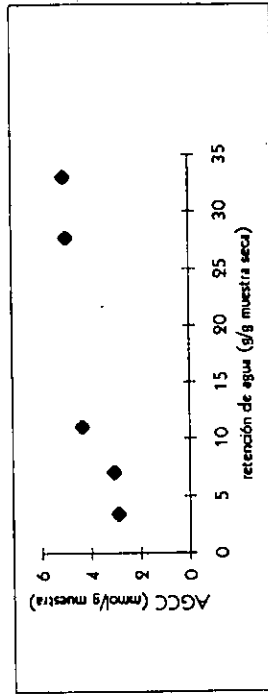
TABLA 13
 CORRELACION ENTRE LAS PROPIEDADES FISICOQUIMICAS Y LOS EFECTOS
 FISIOLOGICOS DE LAS FIBRAS ESTUDIADAS *

VARIABLE FISICOQUIMICA	EFECTOS FISIOLOGICOS		
	Producción de AGCC	Tiempo de tránsito boca-colon	Tiempo máximo de fermentación
Contenido de fibra total	0.74	0.77	0.56
Contenido de fibra soluble	0.65	0.8	0.77
Viscosidad	0.7	0.67	0.8
Absorción de agua	0.92	0.98	0.82

* valor de CC en tablas = 0.80

CORRELACION ENTRE CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA (CRA) Y PRODUCCION DE AGCC

	CRA g/g muestra seca	AGCC mmol/g muestra
Salvado de trigo	3.4	2.9
Glucomanan	33.1	5.04
Psidium plántago	27.7	4.94
Nopal deshidratado	11.1	4.34
Aislado de Soya	7.1	3.05

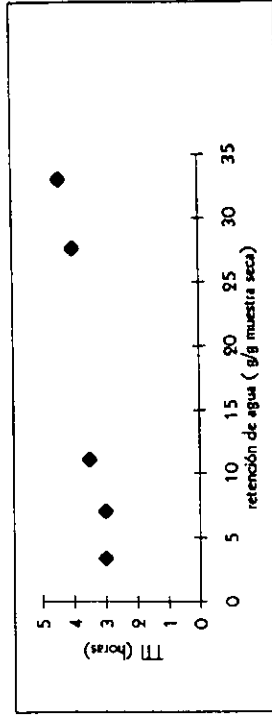


Coef C: 0.919

tablas: 0.80

CORRELACION ENTRE CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA (CRA) Y EL TIEMPO DE TRANSITO BOCA-COLON

	CRA g/g muestra seca	TTI (horas)
Salvado de trigo	3.4	3
Glucomanan	33.1	4.4
Psidium plántago	27.7	4
Nopal deshidratado	11.1	3.5
Aislado de Soya	7.1	3

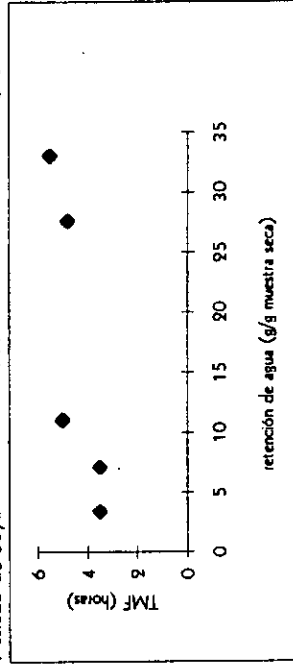


Coef. C: 0.98

tablas: 0.80

CORRELACION ENTRE CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA (CRA) Y EL TIEMPO MAXIMO DE FERMENTACION (TMF)

	CRA g/g muestra seca	TMF (horas)
Salvado de trigo	3.4	3.5
Glucomanan	33.1	5.5
Psidium plántago	27.7	4.8
Nopal deshidratado	11.1	5
Aislado de Soya	7.1	3.5



Coef C: 0.82

tablas: 0.80

efecto específico, es necesario detallar el tipo de fibra recomendada pues aún fibras con características fisicoquímicas similares pueden ocasionar efectos muy diversos, esto se comprobó en el presente estudio.

Tanto el psillium plántago como el salvado de trigo tienen hemicelulosa pero el comportamiento en cuanto a la fermentación fué diferente. El ND tiene alto contenido de pectinas y su principal producción fué de butírico, lo que sugiere el estudio de este tipo de fibra para posibles efectos trópicos de la pared celular de los colonocitos.

Aunque el ensayo de fermentación "*in vitro*" parece sobrestimar la fermentación colónica, considero adecuada esta metodología para medir fermentación colónica "*in vitro*" tanto en polímeros purificados como en concentrados en fibra (como en el presente estudio) aunque en este último caso recomendaría analizar los hidratos de carbono no pertenecientes a la fibra dietética para ver si hay almidón resistente (AR) u otro compuesto fermentable, y así tener una mejor interpretación de los resultados.

Aunque la prueba del hidrógeno espirado parece subestimar la fermentación colónica, esto puede deberse a que los polisacáridos se convierten en H_2 más despacio que los hidratos de carbono simples, por lo que tal vez sea necesario alargar el tiempo de prueba del H_2 espirado cuando se estudia la fermentación de fibra dietética, por lo que se recomienda la realización de estudios más amplios, con un periodo de adaptación previo. Algunos autores han reportado que es necesario hasta 24 horas para que desaparezca el sustrato del colon, y en ocasiones hasta más tiempo; por lo que el periodo de 6 horas establecido en el estudio "*in vivo*" (tiempo recomendado por autores como Hammer y Solomons) no fue suficiente para predecir totalmente la fermentación colónica de las fibras estudiadas; lo cual se comprueba al obtener las curvas de H_2 espirado VS tiempo, donde claramente se observa que algunas fibras están en plena fermentación a las 6 horas de haberlas ingerido.

6.2.2.- SINTOMAS PRESENTADOS DURANTE LA PRUEBA DE H₂ ESPIRADO

Con respecto a los síntomas presentados por los voluntarios (n=12) durante el estudio "in vivo", los resultados obtenidos fueron los siguientes:

SINTOMA		LC %	GM %	PP %	ND %	ST %	AS %	CR %
DISTENSION ABDOMINAL	LEVE	30	50	16	20	--	--	--
	MOD	16	--	8	--	--	--	--
	FUERTE	16	--	--	--	--	--	--
	SIN SINTOMA	38	50	76	80	100	100	100
DOLOR DE CABEZA FUERTE	LEVE	--	--	8	--	--	--	--
	MOD	--	--	--	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--
	SIN SINTOMA	100	100	92	100	100	100	100
DIARREA	LEVE	16	16	--	--	--	--	--
	MOD	8	--	--	--	--	--	--
	FUERTE	8	--	--	--	--	--	--
	SIN SINTOMA	68	84	100	100	100	100	100
COLICO	LEVE	16	16	16	--	--	--	--
	MOD	8	8	--	--	--	--	--
	FUERTE	--	--	--	--	--	--	--
	SIN SINTOMA	76	76	84	100	100	100	100
SACIEDAD	LEVE	8	--	8	16	8	8	--
	MOD	--	--	16	8	--	--	--
	FUERTE	8	16	8	--	--	--	--
	SIN SINTOMA	84	84	68	76	92	92	100
OTROS FLATULENCIA	LEVE	8	16	--	--	--	--	--
	MOD	--	16	--	--	--	--	--
	FUERTE	16	8	--	--	--	--	--
	SIN SINTOMA	76	60	100	100	100	100	100

Los resultados se expresan en % del total de sujetos estudiados.

7.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1.- CONCLUSIONES

Después de llevar a cabo los estudios "*IN VITRO*" e "*IN VIVO*" se concluye que:

- La fermentabilidad de una fuente de fibra dietética es dependiente de la composición química de la matriz en que se encuentra.
- Las heces fecales son un medio lo suficientemente uniforme para llevar a cabo ensayos de fermentación "*in vitro*".
- El tiempo de tránsito boca-colon de los polisacáridos es significativamente mayor que el de los hidratos de carbono simples.
- La capacidad de retención de agua de la fibra afecta significativamente su tránsito boca colon y su fermentabilidad en el organismo humano.

Según las características fisicoquímicas de las fibras estudiadas y los ácidos resultantes de su fermentación colónica, se concluye lo siguiente:

- El glucomanan (GM) es un excelente candidato para mejorar los niveles de glucosa en sangre por su alta producción de ac. propiónico. Muy posiblemente su consumo tenga efectos hipocolesterolémicos. Es una posible candidata para utilizarla en el control de peso, pues produce retraso en el vaciamiento gástrico, lo que provoca saciedad.
- El nopal deshidratado (ND) retrasa el vaciamiento gástrico, lo que ayuda a mejorar la respuesta glicémica; además, permanece mayor tiempo que otras fibras en el colon, lo que favorece la absorción de agua y sodio. En cuanto a su alta producción de ácidos grasos volátiles, principalmente acético y

butírico, es apropiado para mantener la integridad de las células colónicas y podría ser de ayuda en el tratamiento de la colitis.

- El psillium plántago (PP) produce efecto de saciedad y parece aumentar el tiempo de tránsito en colon, por lo que puede ser efectivo en dietas para reducción de peso. Por su alta permanencia en el colon, puede ser efectivo en el tratamiento de la diarrea.
- El Aislado de fibra de soya (AS) favorecerá el aumento de peso en heces, por lo que es útil en el tratamiento de la constipación. Su producción de ácidos grasos volátiles es baja, por lo que no se le deben atribuir efectos debidos a la fermentación.
- El Salvado de trigo (ST) facilita el aumento de masa fecal y por lo tanto es el más indicado en el tratamiento de problemas de constipación. Aunque la producción de AGCC fue baja, tiene alta producción de ac. propiónico, esto sugiere que podría ser útil también en la regulación de concentración de glucosa en plasma.

7.2.- RECOMENDACIONES

Se recomienda:

- En estudios posteriores de H₂ espirado para fibras dietéticas:
 - ⇒ Enjuague bucal de los voluntarios antes de la ingestión de la fibra (para eliminar el pico inicial de H₂).
 - ⇒ Controlar la dieta del día anterior (pues no es conveniente confiar en que los voluntarios realmente llevaron una dieta libre de fibra dietética el día anterior).
 - ⇒ Un periodo previo de adaptación con pequeñas dosis de fibra.
 - ⇒ Duración del estudio mínimo de 12 h.

- Futuras investigaciones a cerca de la variabilidad interindividual de la acumulación de gas después de la ingestión de polisacáridos poco absorbibles como la fibra dietética, para establecer una relación entre ésta y la excreción de H₂.
- Futuros estudios de los posibles efectos de estas fibras directamente en el organismo, por ejemplo: observar el efecto de la fibra en los niveles de insulina, glucosa y AGL en sangre.
- Estudiar los efectos que según la producción individual y el tipo de AGCC tiene cada fuente de fibra dietética, por ejemplo, las posibles propiedades antineoplásicas de fibras como el nopal deshidratado.
- Hacer este tipo de estudios a largo plazo, para ver si hay cambios en los efectos que tienen las fuentes de fibra sobre el organismo y también para valorar sus efectos sobre la absorción de minerales y elementos traza.
- Comprobar si realmente se logra el efecto esperado en las enfermedades en las que se utilizan los diferentes tipos de fibra para así recomendarlas con suficientes bases científicas, ya sea para la fabricación de complementos alimenticios o directamente como parte del tratamiento dietoterapéutico de dichas enfermedades.
- Estudiar la inclusión de GM, ND, y/o PP en la dieta de pacientes postoperatorios, principalmente aquellos con nutrición enteral que presenten problemas de diarrea, pues si como comúnmente sucede, es debida a la desnutrición colónica, esta es la opción adecuada.
- Realizar investigaciones futuras dedicadas a la obtención de nuevos aislados de fibra dietética a partir de productos mexicanos, pues este puede ser un campo muy fértil para la industria tanto alimenticia como farmacéutica.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- David, L. Soluble Fiber Polysaccharides: Effects on plasma Cholesterol and Colonic Fermentation.- *Nutrition Reviews* 1991, 7:195-202
- 2.- Rosado, J., López P., Morales, M.- Dietary fiber in Mexican Foods.- *Journal of Food Composition and Analysis* 1993,6: 215-222.
- 3.- Rosado, J. y M. Díaz.- Propiedades fisicoquímicas relacionadas con función gastrointestinal de seis fuentes de fibra dietética.- *Revista de Investigación Clínica* 1995,47:283-289.
- 4.- Cummings, J. y H. Englyst.- Fermentation on the human large intestine and the available substrates.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1991, 53:55-60
- 5.- Frati, A., Quiroz, J. Altamirano, P. y M. Ham. - Efecto de diferentes dosis de nopal (*Opuntia streptacantha lemaire*) en la prueba de tolerancia a la glucosa en individuos sanos.- *Archivos de Investigación Médica* 1988, 19: 143-148
- 6.- Eastwood, M. y C. Morris.- Physical properties of dietary fiber that influence physiological function: a model for polymers along the gastrointestinal tract.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1992, 55: 436-442.
- 7.- Cummings, J.- Dietary fibre.- *British Medical Bulletin* 1981, 37:65-70.
- 8.- Ranganathan, S., Champ, M. Pechard C., Blanchard, P y M. Nguyen .- Comparative study of acute effects of resistant starch and dietary fibers on metabolic indexes in men.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1994, 59:879-883.
- 9.- Fleming, S., O'Donnell y J. Perman.- Influence of frequent and long-term bean consumption on colonic function and fermentation.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1985, 41: 909-918.
- 10.- Munster, I., Boer, H., Jansen, C, Haan, A, Katan, J y F. Nagegast.- Effect of resistant starch on breath hydrogen and methane excretion in healthy volunteers.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1994, 59: 626-630.
- 11.- Munster, I. Tangerman, M. y F. Nagengast.- Effect of resistant starch on colonic fermentation, bile acid metabolism and mucosal proliferation.- *Digestive disease and Science* 1994, 39: 834-840.
- 12.- Fennema, O.- *Química de los alimentos.*- 2ª edic.; Editorial Acribia, S.A.,- España, 1986.- pp 85-150.

- 13.- Mortensen, P., Holtug, K. y H. Rasmussen.- Short-Chain Fatty Acid production from mono and disaccharides in a fecal incubation system: implications for colonic fermentation of dietary fiber in humans.- American Institute of Nutrition 1987: 321-325.
- 14.- Englyst, HN, Trowell, H. Southgate D y J. Cummings.- Dietary fiber and resistant starch.- American Journal of Clinical Nutrition 1987,46: 873-874.
- 15.- Spiller, G.- Beyond Dietary fiber.- American Journal of Clinical Nutrition 1991,54:615-617.
- 16.- Cummings, J. y A. Stephen.- The role of Dietary Fiber in the human colon.- Canadian Medical Association Journal 1980,123: 1109-1114
- 17.- Doi, K.- Effect of konjac fibre (glucomannan) on glucose and lipids.- European Journal of Clinical Nutrition 1995, 94 supl 3:190-197.
- 18.-Venter, CS y H. Vorster.- Possible Metabolic Consequences of fermentation in the colon for humans.- Medical Hypotheses 1989,29:161-166
- 19.- Crapo, PA., Reaven, G. y J. Olefsky.- Postprandial plasma glucose and insulin responses to diferent complex of carbohydrates.- Diabetes 1977,26:1178.
- 20.- Mc. Burney, M. y L. Thompson.- Dietary Fiber and total enteral nutrition: Fermentative Assesment of five fiver supplements.- Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 1991, 15:267-270.
- 21.- Stephen, A., Wiggins, H., Englyst, T, Cole T., y J. Cummings. - The effect of age, sex and level of intake of dietary fibre from wheat on large bowel function in thirty healthy subjects.- Brittish Journal of Nutrition 1986, 56:349-361.
- 22.- Stephen, A. y J. Cummings.- Mechanism of action of dietary fibre in the human colon.- Nature 1980,284:283-84.
- 23.- Behall, K. y J. Howe.- Contribution of fiber and resistant starch to metabolizable energy.-American Journal of Clinical Nutrition 1995,62:1158s-1160s.
- 24.- Bourquin, L. Titgemeyer, E. y G. Fahey.- Vegetable Fiber fermentation by human fecal bacteria: Cell wall polysaccharide disappearance and Short-Chain Fatty Acid production during IN VITRO fermentation and wather holding capacity of unfermented residues.- American Institute of Nutrition 1992: 860-869.
- 25.- Jenkins, D., Jenkins, A., Wolever, T, Rao, A. y L. Thomp.- Fiber and Starchy foods: gut function and implications in disease.- American Journal of Gastroenterology 1986,81:920-930.
- 26.- Anderson, J. y A. Akanji.- Dietary fiber- an overview.- Diabetes care 1991,14: 1126-1130.

- 27.- Laurent, C., Simoneau C., Marks, L. Champ, M y B. Charbonnel. - Effects of acetate and propionate on fasting hepatic glucose production in humans.- *European Journal of Clinical Nutrition* 1995,49: 484-491.
- 28.- Adiotomre, J., Easwood, M. Edwards, C. y W. Gordon.- Dietary Fiber: In vitro methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1990,52: 128-134.
- 29.- Morgan, L., Tredger, J. y V. Marks.- The effect of soluble and insoluble fibre supplementation on post-prandial glucose tolerance, insulin and gastric inhibitory polypeptide secretion in healthy subjects.- *British Journal of Nutrition* 1990,64: 103-110.
- 30.- Hagandar, B.- Fibre and the diabetic diet.- *Acta Medica Scandinavica*, 1987, 716: 1-55.
- 31.- Todesco, T., Venkeshwer, A., Bosello, O. y D. Jenkins.- Propionate lowers blood glucose and alters lipid metabolism in healthy subjects.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1991,54: 860-865.
- 32.- Southgate, D., Branch, W. Hill, M. Walters, R. y I. Mc Lean.- Metabolic Responses to dietary supplements of bran.- *Metabolism* 1976,25: 1129-1135.
- 33.- Stephen, A.- Impact of consuming whole grains on physiological effects of dietary fiber and starch.- *Crit. Rev. of Food, Science and Nutrition* 1994,34:499-511.
- 34.- Roberfroid, M.- Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects.- *Crit. Rev. Of Food, science and nutrition*, 1993,33: 103-148.
- 35.- Jenkins, D. Wolever, T., Jenkins, A., Brighenti, F, Vuksan, V. Connelly, P., Buckley, G. y R. Patten.- Specific types of colonic fermentation may rise low-density lipoprotein-cholesterol concentrations.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1991,54: 141-147.
- 36.- Wolever, T., Spadafora, P., Cunnane, S. y P. Pencharz.- Propionate inhibits incorporation of colonic {1,2 ¹³C} acetate into plasma lipids in humans.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1995,61: 1241-1247
- 37.- Christ, S.-Influence of starch fermentation on bile acid metabolism by colonic bacteria.- *Nutrición y Cáncer*, 1995,24:67-75.
- 38.- Bartram, H., Scheppach, W., Englert, S., Dusel, G. Richter, F. y H. Kasper- Effects of deoxycholic acid and butyrate on mucosal prostaglandin E₂ release and cell proliferation in the human sigmoid colon.- *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1995,19: 182-185.

- 39.- Treem, W., Ahsan, N. Shoup, M y J. Hyams.- Fecal Short-Chain Fatty Acids in Children with inflammatory Bowel Disease.- *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1994,18:159-163.
- 40.- Homann, H., Kemen, M. Fuessenich, M y V. Zumtobel.- Reduction in diarrhea incidence by soluble fiber in patients receiving total or supplemental enteral nutrition.- *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 1994,48: 486-490.
- 41.- Vaisman, N. Tabachnik, E. y D. Sklan.- Short Chain Fatty Acid absorption in patients with cystic fibrosis.- *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1992,15: 146-149.
- 42.- Cummings, J.- Fermentation in the human large intestine: evidence and implication for health.- *Lancet* 1983,1: 1206-1209.
- 43.- Clausen, M., Bonnen, H., Tvede, M. y P. Mortensen.- Colonic fermentation to short chain fatty acids is decreased in antibiotic-associated diarrhea.- *Gastroenterology* 1991,101: 1497-1504.
- 44.- Salyers, A.- Energy sources of major intestinal fermentative anaerobes.- *American Journal of clinical nutrition* 1979,32:158-163.
- 45.- Bourquin, L., Titgemeyer, E. Garleb, K. Y G. Fahey.- Short Chain Fatty Acid Production and fiber degradation by human colonic bacteria: Effects of substrate and cell wall fractionation procedures.- *American Institute of Nutrition* 1991: 1508-1519.
- 46.- Heresbach, D., Flourie, B. Briet, F. y B. Messing.- Effect of colonic fermentation on respiratory gas exchanges measured in the postabsorptive state.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1995,62: 973-978.
- 47.- Rosado, JL, López, P. Morales, M. y L. Allen.- Fiber digestibility and breath hydrogen excretion in subjects consuming rural and urban mexican diets.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1991,53: 55-60
- 48.- Fredstrom, S.- Apparent fiber digestibility and fecal Short-Chain Fatty Acid concentration with ingestion of two types of dietary fiber.- *Journal of Parenteral an Enteral Nutrition* 1994,18:14-19.
- 49.- Norgaard, I., Hansen, B. y B. Mortensen.- Colonic Fermentation of Complex dietary carbohydrates on short bowel patients.- *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1995,30: 897-904.
- 50.- Cummings, JH., Pomare, E., Branch, W., Naylor, C. y G., Macfarlane.- Short-Chain Fatty Acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood.- *Gut* 1987,28: 1221-1227.
- 51.- Lifschitz, C., Carrazza, F., Feste, A. y P. Klein.- In vivo study of colonic fermentation of carbohydrate in infants.- *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1995,20: 59-64.

- 52.- Ritz, P., Cloarec, D., Champ, M. Normand, S. y M. Krempf.- Effects of colonic fermentation on respiratory gas exchanges following a glucose load in man.- *Metabolism* 1993,42: 347-352.
- 53.- Wisker, E., Maltz, A. y W. Feldheim.- Metabolizable energy of diets low or high in dietary fiber from cereals when eaten by humans.- *American Institute of Nutrition* 1987: 945-951.
- 54.- Perman, J., Modler, S. y A. Olson.- Role of pH in production of Hydrogen from Carbohydrates by colonic bacterial flora.- *Journal of Clinical Investigation* 1981,67:643-650.
- 55.-Mc. Burney, M. y L. Thompson.- Effect of human faecal inoculum on IN VITRO fermentation variables.- *British Journal of Nutrition* 1987,58:233-243.
- 56.- Solomons, N.- Evaluation of Carbohydrate absorption: the hydrogen breath test in clinical practice.- *Clinical Nutrition* 1984,3:71-77.
- 57.- Mc. Neil, N.- The contribution of the large intestine to energy supplies in man.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1984,39: 338-342.
- 58.- Friedel, D. y G. Levine.- Effect of Short Chain Fatty Acids on colonic function and structure.- *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1992,16:1-4.
- 59.- Mortensen, MD.- Colonic fermentation of spagula, wheat bran, glucose and albumin to short chain fatty acids and ammonia evaluated IN VITRO in 50 subjects.- *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1991,16: 433-439.
- 60.- Miller, T. y M. Wolin.- Fermentations by saccharolytic intestinal bacteria.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1979, 32: 164-172.
- 61.- Cherbut, C. - Sugar composition of dietary fibre and short chain fatty acid production during IN VITRO fermentation by human bacteria.- *British Journal of Nutrition* 1993,70: 189-197.
- 62.- Nordgaard, I. y P. Mortensen.- Digestive processes in the human colon.- *Nutrition* 1995,11:49-50.
- 63.- Bryant, M.- Nutritional features and ecology of predominant anaerobic bacteria of the intestinal tract.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1974,27: 1313-1319.
- 64.- Argenzio, L.- Short Chain Fatty Acids and the colon.- *Digestive diseases and Sciences* 1981,26: 97-99.
- 65.- Roediger, WE.- Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man.- *Gut* 1980,21:793-798.

- 66.- Roediger, W.- Famine, Fiber Fatty acids and failed colonic absorption: Does fiber fermentation ameliorate diarrhea?.- *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1994,18:4-8.
- 67.- Wolever, T., Spadafora, P. & H. Eshuis.- Interaction between colonic acetate and propionate in humans.- *American Journal of Clinical Nutrition* 1991,53:681-687.
- 68.- Gibson, P., Rosella O. y G. Young.- Butyrate is a potent inhibitor of urokinase secretion by normal colonic epithelium in vitro.- *Gastroenterology* 1994,107: 410-419.
- 69.- Nogaard, I.- Short Chain Fatty Acids, Lactate and Ammonia in Ileorectal and Ileal Pouch Contents: A model of cecal fermentation.- *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1993, 34: 324-331.
- 70.- Scheppach, W., Bartram, H. y F. Richter.- Role of short chain fatty acids in the prevention of colorectal cancer.- *European Journal of Cancer* 1995, 31^a: 1077-1080.
- 71.- Lupton, JR y PP Kurtz.- Relationship of colonic luminal short chain fatty acids and pH to in vivo cell proliferation in rats.- *Journal of Nutrition* 1993, 123: 1522-1530.
- 72.- Bond JH y MD Levitt.- Use of Pulmonary Hydrogen (H₂) measurements to quantitate carbohydrate absorption.- *The Journal of Clinical Investigation* 1972, 51:1219-1225.
- 73.- Solomons, N.- The Hydrogen Breath test and gastrointestinal disorders.- *Gastrointestinal Diseases* 1981, 7: 7-15.
- 74.- Solomons, N.- Application of a simple gas chromatographic technique for measuring breath hydrogen.- *Journal of laboratory clin. Medical* 1977, 90: 856-861.-
- 75.- Rumessen, J.- Hydrogen and methane breath test for evaluation of resistant carbohydrates.- *European Journal of Clinical Nutrition* 1992, 46 s: 77-90.
- 76.- Olesen, M., Rumessen, J., y E. Gudmand.- Intestinal transport and fermentation of resistant starch evaluated by the hydrogen breath test.- *European Journal of Clinical Nutrition*, 1994, 48: 692-701.
- 77.- Rosado, JL, Gonzalez, C., Palma, M., López, P. y C. Baez.- Lactose Maldigestion and milk intolerance: a study in rural and urban Mexico using physiological doses of milk.- *American Institute of Nutrition* 1994: 1052-1059.
- 78.- Saltzberg, D., Levine, G y M. Lubar.- Impact of age, sex, race and functional complaints on hydrogen (H₂) production.- *Digestive Diseases and Sciences* 1988, 33: 308-313.
- 79.- Rosado, JL y N. Solomons.- Sensitivity and specificity of the Hydrogen breath analysis test for detecting malabsorption of physiological doses of lactose.- *Clinical Chemistry* 1983, 29: 545-548.

- 80.- Bond, J. y M. Levitt.- Investigation of small bowel transit time in man utilizing pulmonary hydrogen (H₂) measurements.- *Journal of Laboratory Clin. Medical* 1975: 546-554.
- 81.- Mastropaolo, J. y W. Rees.- Evaluation of the hydrogen breath test in man: definition and elimination of the early hydrogen peak.- *Gut* 1987, 28: 721-725.
- 82.- Read, N., Janabi, A., Bates, T. Holgate, A. Kinsan, R y C. Brown.- Interpretation of the breath hydrogen profile obtained after ingesting a solid meal containing unabsorbable carbohydrate.- *Gut* 1985, 26: 834-842.
- 83.- Rosado, JL.- Análisis de Hidrogeno espirado como índice de absorción de carbohidratos.- *Revista de Investigación Clínica* 1985, 37: 261-270.
- 84.- Stephensen, Ch., Bradley, R. y D. Sack.- Comparison of noninvasive breath hydrogen test for gastric acid secretion to standard intubation test in infants and young children.- *Digestive Diseases and Sciences* 1987, 32: 978-984.
- 85.- Cook, G.- Breath hydrogen concentrations after oral lactose and lactulose in tropical malabsorption and adult hypolactasia *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1978, 72: 277-281.
- 86.- Hammer, H.- Colonic Hydrogen absorption: quantification of its effect on hydrogen accumulation caused by bacterial fermentation of carbohydrates.- *Gut* 1993, 34: 818-822.
- 87.- Gibson, G., Cummings J., Macfarlane, G., Allison, C. y A. Walker.- Alternative pathways for hydrogen disposal during fermentation in the human colon.- *Gut* 1990, 31: 679-683.
- 88.- Bridson, E.- *The Oxoid manual*.- Unipath Limited, 6ª ed ,England, 1990.- p184.-
- 89.- Mc. Nair, H y E. Bonelli.- *Basic Gas Chromatography*.- Varian, 5ªed. Berkeley, 1987.-
- 90.- *Manual del Curso básico de Cromatografía de Gases*.- Varian, S.A.- México, D.F. 1995.-
- 91.- Mason, R, Gunst R. y J. Hess.- *Statistical Design and Analysis of experiments*.- Edit. Wiley, USA 1989.- pp 20,149-154, 301-310.
- 92.- Ramirez Castillo, R.- *Manual para el Curso de Diseño de Experimentos*.- UNAM .- México, 1995.- pp36-46, 77-88,118-120.
- 93.- Rosado, JL.- IN VIVO Hydrolysis of dietary lactosa using food grade B-Galactosidasas- *Massachusetts Institute of Tecnology*.- Dic 1982.- pp14.-

94.- Flatz, G., Kuhnaw W. y D. Naftali.- Breath Hydrogen test for lactose absorption capacity: importance of timing of hydrogen excretion and of high fasting hydrogen concentration.- American Journal of Clinical Nutrition 1984,39:752-755.-

95.- Hanson, CF. y EA. Winterfeld.- Dietary fiber effects on passage rate and breath hydrogen.- American Journal of Clinical Nutrition 1985, 42:44-48.