

ISSN: 2529-850X



Journal

of Negative & No Positive Results

Incluida en:



Órgano oficial de la Asociación Para el Progreso de la Biomedicina

SUMARIO

Editorial

- 199 **Hacen lo que saben sin saber lo que hacen.**
Antonio Zarazaga Monzón

Original

- 201 **Application of a geometric and mathematical model to the biomechanics of the lumbar region in weightlifting athletes.**
Fernando Blaya-Haro, Pilar San-Pedro-Orozco, Juan A. Juanes-Méndez, Luis T. Gallego-Morales, Ángeles Franco-López, José A. Rodríguez-Montes
- 210 **Nulo efecto bactericida de la radiación ultravioleta emitida por diodos LED.**
Francisco Alcántara Muñoz, Rafael Moreno-Rojas, Alicia Moreno Ortega, José Emilio Muñoz Cañete y Rafael Gómez Díaz
- 216 **Los probióticos no mejoran los beneficios de un protocolo hospitalario de tratamiento de la diarrea aguda en el lactante.**
Sergio Santana Porbén, Eduardo Piñeiro Fernández, Rafael Jiménez García, Stefanie Marcela Ruiz Fallas
- 224 **Influence of sleep upon overweight in children and adolescents.**
Víctor Paredes Barato, Ismael San Mauro Martín, Elena Garicano Vilar, Esther Moraleta Ponzola, Sara López Oliva, Sara Sanz Rojo, Petar Petrov
- 229 **Cardiovascular disease markers responses in male receiving improved-fat meat-products vary by initial LDL-cholesterol levels.**
Paloma Celada, Francisco José Sánchez-Muniz, Gonzalo Delgado-Pando, Sara Bastida, Manuel Espárrago-Rodilla, Francisco Jiménez-Colmenero, Begoña Olmedilla-Alonso

Journal

of Negative & No Positive Results

Órgano oficial de la Asociación Para el Progreso de la Biomedicina

Director

JESÚS M. CULEBRAS

*De la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid y del Instituto de Biomedicina (IBIOMED).
Universidad de León (Spain). Ac. Profesor Titular de Cirugía
doctorculebras@gmail.com*

Journal of Negative and No Positive Results es una revista internacional, sometida a revisión por pares y Open Access, *Órgano oficial de la Asociación Para el Progreso de la Biomedicina*, (CIF G24325037) que centra su enfoque en los resultados negativos, neutros o no positivos de las investigaciones en ciencia, salud y farmacia.

Journal of Negative and No Positive Results is an international rapid peer-reviewed journal, open access, *official organ of the Association for the Progress of Biomedicine (CIF G24325037)*, focused in negative, neutral or not positive results from research in science, health and pharma.

NORMAS DE PUBLICACIÓN EN LA REVISTA:

<http://www.jonnpr.com/Normas%20de%20publicacion%20v01%20Mayo%202016.pdf>

GUIDELINES OF PUBLICATION IN THE JOURNAL:

<http://www.jonnpr.com/Guidelines%20of%20publication%20v01%20May%202016.pdf>

Dirección postal

Research Centres in Nutrition and Health
Paseo de la Habana 43
28036 Madrid (España)

SopORTE editorial

Luis Vicente Vacas
C/ San Emilio 28, Bajo 1
28017 Madrid (España)

Contacto principal

contacto@jonnpr.com

Contacto de soporte

Responsable editorial
Correo electrónico: luis.vicente@jonnpr.com

Dep. Legal: Exento según R.D. 635/2015

ISSN-L: 2529-850X

Journal

of Negative & No Positive Results

Director

JESÚS M. CULEBRAS

*De la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid y del Instituto de Biomedicina (IBIOMED).
Universidad de León (Spain). Ac. Profesor Titular de Cirugía*
doctorculebras@gmail.com

Comité Editorial

Roxana Bravo

Centro Nacional de Planeamiento Estratégico
(CEPLAN), (Perú).
insgastronomia@gmail.com

Luis Collado Yurrita

Departamento de Medicina, Universidad Complutense
de Madrid (España)
lcollado@ucm.es

Mauricio Di Silvio

Dirección de Educación y Capacitación del Hospital
General de México, (México)
disilviomauricio@gmail.com

Abelardo García de Lorenzo

acCatedrático y Director de la Cátedra de Medicina
Crítica y Metabolismo-UAM. Jefe de Servicio de
Medicina Intensiva. Hospital Universitario La Paz-
Carlos III. Madrid. Instituto de Investigación IdiPAZ
(España)
aqdl@telefonica.net

Javier González Gallego

Institute of Biomedicine (IBIOMED), University of León,
(España)
jgonga@unileon.es

José Antonio Irlés Rocamora

UGC Endocrinología y Nutrición Hospital Ntra Sra de
Valme Sevilla. (España)
josea.irlés.sspa@juntadeandalucia.es

Beatriz Jáuregui Garrido

Hospital Virgen del Rocío (Unidad de Arritmias)
(España)
beatrizjq86@gmail.com

Ignacio Jáuregui Lobera

Departamento de Biología Molecular e Ingeniería
Bioquímica. Área de Nutrición y Bromatología.
Universidad Pablo de Olavide. Sevilla (España)
ijl@tcasevilla.com

Arturo Jiménez Cruz

Facultad de Medicina y Psicología y Universidad
Autónoma de Baja California, (México)
ajimenez@uabc.edu.mx

Francisco Jorquera Plaza

Jefe de Servicio de Aparato Digestivo Complejo
Asistencial Universitario de León (España)
fjorqueraplaza@gmail.com

Emilio Martínez de Vitoria

Departamento de Fisiología. Instituto de Nutrición y
Tecnología de los Alimentos "José Mataix" (INYTA).
Universidad de Granada. Armilla Granada. (España)
emiliom@ionnpr.com

José Luis Mauriz Gutiérrez

Institute of Biomedicine (IBIOMED). University of León.
León (España)
jlmauriz@unileon.es

Juan José Nava Mateos

Medicina Interna. Hospital Ramón y Cajal de Madrid
(España)
navamateos@gmail.com

Pedro Luis Prieto Hontoria

Universidad SEK. Facultad de Salud y Ciencias de la
Actividad Física. (Chile)
pedro.prieto@usek.cl

Amelia Rodríguez Martín

Catedrática de Salud Pública de la Facultad de
Enfermería y Fisioterapia. Universidad de Cádiz
(España)
amelia.rodriguez@uca.es

Francisco J Sánchez Muniz

Académico de Número de la Real Academia Nacional
de Farmacia. Departamento de Nutrición. Facultad de
Farmacia, Universidad Complutense de Madrid
(España)
frasan@ucm.es

Sergio Santana Porbén

Médico, Especialista de Segundo Grado en
Bioquímica Clínica, Máster en Nutrición en Salud
Pública, Profesor Asistente de Bioquímica, Editor-
Ejecutivo de la RCAN Revista Cubana de Alimentación
y Nutrición. La Habana, Cuba
ssergito@ionnpr.com

Javier Sanz Valero

Àrea d'Historia de la Ciència. Dept. Salut Pública,
Història de la Ciència y Ginecologia. Universitat Miguel
Hernández. Sant Joan d'Alacant (España)
jsanz@umh.es

Dan Waitzberg

University of Sao Paulo Medical School (Brasil)
dan.waitzberg@gmail.com

Carmina Wanden-Berghe

Hospital General Universitario de Alicante ISABIAL-
FISABIO
carminaw@telefonica.net

Journal

of Negative & No Positive Results

NORMAS DE PUBLICACIÓN EN LA REVISTA

Política editorial

Journal of Negative and No Positive Results es una revista internacional que centra su enfoque en los resultados negativos, neutros o no positivos de las investigaciones en ciencia, salud y farmacia. La revisión de los artículos se realiza por pares. La filosofía de la revista es Open Access para facilitar el acceso universal a la información publicada.

Los artículos deben enviarse a la revista a través del sistema *online* de gestión. Los manuscritos deben elaborarse siguiendo las recomendaciones del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas en su última versión (disponible en <http://www.icmje.org>), y ajustarse a las normas aquí presentadas. La falta de consideración de estas instrucciones, además de producir un retraso en el proceso editorial, puede causar el rechazo del trabajo.

Igualmente, la falta de adherencia de los trabajos presentados a las instrucciones recogidas en este documento causará la devolución del trabajo a sus autores para que subsanen las deficiencias encontradas antes de proseguir con el proceso editorial.

Los artículos que se remitan deben ser originales e inéditos y no habrán sido publicados con anterioridad ni estar en evaluación en ninguna otra revista.

Todos los manuscritos se someterán a un proceso estandarizado de revisión anónima «por pares». El comité editorial remitirá a los/as autores/as el informe de los/as revisores/as, que también será anónimo, y al que deberán contestar de acuerdo con las recomendaciones que se les indiquen. Posteriormente se confirmará la aceptación del manuscrito. En todo caso, el comité editorial se reserva el derecho de rechazar los originales que no juzgue apropiados, así como proponer las modificaciones que considere oportunas. Las cartas al director pueden ser aceptadas directamente por el/la directora/a, previo informe del comité editorial. Los/as autores/as que consideren muy importante la rápida publicación de su trabajo deberán indicarlo expresamente en la carta de presentación, justificándolo adecuadamente. A juicio del comité editorial de la revista estos trabajos tendrán un proceso de revisión preferente. Los juicios y opiniones emitidos en los artículos, así como los posibles errores o falsedades, son responsabilidad exclusiva de los/as autores/as.

Todos los artículos aceptados quedan como propiedad de *Journal of Negative and No Positive Results*, y no podrán ser reproducidos en parte o totalmente sin su permiso. Los/as autores/as ceden, en el supuesto de publicación, de forma exclusiva los derechos de edición, reproducción, distribución, traducción y comunicación pública (por cualquier medio o soporte sonoro, audiovisual o electrónico) de su trabajo. El comité editorial de *Journal of Negative and No Positive Results* podrá incluir el artículo en los índices nacionales e internacionales o bases de datos que considere oportuno. Para ello, se adjuntará una carta de cesión de derechos en el momento del envío del trabajo a través del sistema *online* de gestión de manuscritos.

Tipos y extensión de los artículos

Editorial. Puede ser de carácter científico o de carácter profesional referente a aspectos relacionados con los órganos de gestión de la **Journal of Negative and No Positive Results**, con los comités de la revista, o temas actuales. También puede publicarse un editorial previa solicitud de los/las autores/as interesados/as y valoración por el comité editorial (se recomienda consultar previamente con el editor/a jefe de la revista).

Original. Trabajo de investigación cuantitativa o cualitativa relacionado con cualquier aspecto de la investigación en los campos que son objeto de la revista. Este tipo de artículo debe incluir un texto antes de la introducción en el que se explique qué aporta el estudio realizado a la literatura científica, con el fin de ofrecer a los/las lectores/as una visión general del contenido más relevante, (ver procedimiento de envío, segundo documento, aportación a la literatura científica).

Original breve. Trabajo de la misma característica que el original, que por sus condiciones especiales y concreción, puede ser publicado de manera más abreviada.

Revisión. Trabajo de revisión, preferiblemente mediante metodología sistemática, con o sin meta-análisis, sobre temas relevantes y de actualidad en los campos que son objeto de la revista.

Cartas al director. Tendrá cabida en esta sección cualquier comunicación breve que realice:

- Comentarios sobre una publicación previamente aparecida en la revista. Tendrán preferencia y se publicarán de forma más rápida las cartas que hagan referencia a artículos aparecidos en el número anterior.
- Comentarios sobre la línea editorial de la revista, o sobre noticias de actualidad científica, siempre que tengan un claro interés en los campos que son objeto de la revista.

Extensión orientativa de los artículos				
Tipo de artículo	Resumen	Texto	Tablas y figuras	Referencias
Editoriales	---	2.000 palabras	1	10
Originales	Estructurado 250 palabras	3.500 palabras	6	30
Originales breves	Estructurado 150 palabras	2.000 palabras	3	15
Revisión	Estructurado 300 palabras	6.000 palabras	6	150
Cartas al director	---	400 palabras	1	5

NORMAS DE PRESENTACIÓN

Aspectos formales del artículo

Journal of Negative and No Positive Results publica artículos en español y en inglés. Cuando el artículo esté en inglés, antes de su envío a la revista debe ser revisado por una persona angloparlante. Tanto para los artículos en español como en inglés se debe de incluir el resumen y las palabras clave en ambos idiomas en aquellos tipos de artículo que requieran resumen.

El texto debe presentarse en formato Word, con un interlineado de 1,5 en todas sus secciones, márgenes de 2 centímetros y con las páginas numeradas en la parte inferior derecha. Se evitará el uso de abreviaturas en el título y en el resumen del trabajo. La primera vez que aparezca una abreviatura en el texto debe estar precedida por el término completo a que se refiere, excepto en el caso de unidades de medida. Éstas se expresarán preferentemente en Unidades del Sistema Internacional. Las cifras decimales se separan de las unidades mediante una coma y los millares se indican mediante un punto. En los artículos en inglés se deberá seguir la puntuación correspondiente, decimales mediante un punto y millares con una coma).

Recomendaciones para la publicación

Journal of Negative and No Positive Results se adhiere a los «requisitos de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas» elaborados por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, en su edición más actual, cuyo texto oficial se encuentra disponible en: <http://www.icmje.org/>

Para realización de ensayos clínicos hay que considerar las normas dictadas por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, disponible en: <http://www.aemps.gob.es/investigacionClinica/medicamentos/ensayosClinicos.htm>; y figurar en el registro español de estudios clínicos (el código de identificación debe hacerse constar en el artículo de publicación).

Adherencia a recomendaciones éticas

Los estudios enviados, en caso de que se hayan realizado con personas o animales, deberán haber sido evaluados y autorizados previamente por comités de investigación o de ensayos clínicos y confirmar que se adhiere a los principios básicos de la Declaración de Helsinki de la *World Medical Association* (texto disponible en: <http://www.wma.net/es/20activities/10ethics/10helsinki/>).

En especial se deberá informar que los datos de pacientes se han obtenido tras la firma de un consentimiento informado cuando éste sea necesario. Del mismo modo, los autores deberán declarar que se han seguido los protocolos establecidos por sus respectivos centros sanitarios para acceder a los datos de las historias clínicas a los fines de poder realizar este tipo de publicación con finalidad de investigación/divulgación para la comunidad científica. Todas estas condiciones deben figurar clara y detalladamente en el apartado de Métodos.

PROCEDIMIENTO DE ENVÍO

Los artículos deben remitirse por vía electrónica a través de la dirección Web <http://www.jonnpr.com>, donde se encuentra toda la información necesaria para realizar el envío. A través de esta página Web también se podrá realizar un seguimiento del estado del artículo.

Los artículos se introducirán en el sistema en varios archivos:

- Primer documento que incluirá la página del título, carta de presentación, declaración de autoría, financiación, agradecimientos y conflicto de interés.
- Segundo documento con el cuerpo del texto (resumen y palabras clave, *abstract* y *keywords*, introducción, métodos, resultados, discusión, bibliografía, tablas y pies de figura).
- Figuras.

En el sistema de envío online se encontrarán instrucciones más detalladas.

Proceso de revisión: Siempre que se sugiera efectuar modificaciones en los artículos, los autores deberán remitir junto a la nueva versión del artículo una explicación detallada de las modificaciones realizadas, las sugeridas tanto por los informes de los expertos consultados como por el comité editorial de la revista.

Primer documento

Página del título: Contendrá el título del trabajo, los autores y su filiación, el autor responsable del manuscrito y su dirección, y el número de palabras de los resúmenes y del manuscrito.

El título deberá describir adecuadamente el contenido del trabajo y ser lo más conciso posible, en una sola frase (en general, no más de 15 palabras). Se deben evitar los acrónimos, códigos y símbolos que no sean de uso común.

Debe figurar en todos los casos el título en español e inglés.

Los autores indicarán el nombre (sin abreviar) con uno o dos apellidos. Posteriormente y en línea inferior, se indicará el servicio o departamentos a los que pertenecen y la institución correspondiente. No se indicará el grado académico ni la categoría profesional de los/las autores/as. Es importante tener en cuenta los requisitos de autoría grupal. Se recomienda a los autores que definan su «apellido bibliográfico» mediante el uso de un sólo apellido o de los dos apellidos unidos por un guión, para evitar confusiones en las bases de datos bibliográficas. Aquellos autores que envíen el manuscrito con dos apellidos deben tener en cuenta que se publicarán los dos apellidos en la cabecera del artículo y enviará a las bases de datos en las que está indexada la referencia con los dos apellidos, no haciéndose responsable de las posibles confusiones en la citación posterior del autor.

El autor responsable de la correspondencia deberá estar claramente indicado, junto a su dirección profesional o particular completa, incluyendo número de teléfono y correo electrónico. Las direcciones postal y electrónica figurarán en la primera página del artículo si fuera publicado.

Recuento de palabras, indicando por separado el número de palabras del resumen en español y en inglés, y el número de palabras del texto principal (sin incluir la primera página, el resumen/abstract, la bibliografía, las tablas ni las figuras).

Carta de presentación: Debe incluirse un párrafo acerca de cuál es el mensaje principal, su aportación al conocimiento previo, la originalidad y la relevancia del trabajo. La carta de presentación debe indicar:

- El tipo de artículo, sin perjuicio de la decisión final del comité editorial de la revista.

- Que el trabajo no ha sido publicado previamente, ni se encuentra en proceso de revisión en ninguna otra revista.
- Que se han obtenido las adecuadas autorizaciones para la reproducción de material ya publicado (si es el caso) y que se entregarán a la editorial toda vez que el trabajo haya sido aceptado para publicación.
- Indicación y justificación, si procede, de la necesidad de un proceso rápido de publicación por la especial actualidad de la investigación o la rápida obsolescencia de los datos.

Además, debe dejar constancia del cumplimiento de las normas de la revista, y si hubiera trabajos que pudieran ser considerados publicación redundante se deberá explicar en este apartado, así como cualquier otra eventualidad que pueda ser de interés para el/la editor/a jefe de ***Journal of Negative and No Positive Results***.

Declaración de autoría: En este apartado se incluirá un párrafo donde se especifique claramente cuál ha sido la contribución de cada uno/una de los autores/as, tanto en el trabajo como en la elaboración del artículo. Los requisitos de uniformidad para la presentación de manuscritos a revistas científicas establecen que las autorías deben basarse en la contribución sustancial, que debe darse simultáneamente a:

- La concepción y el diseño del trabajo, o a la recogida de datos, o al análisis y la interpretación de los datos.
- La escritura del artículo o su revisión crítica con importantes contribuciones intelectuales.
- La aprobación de la versión final para su publicación.

Deben cumplirse todas estas condiciones, ya que la participación exclusiva en la búsqueda y la obtención de fondos, en la recogida de datos o en el análisis estadístico, por ejemplo, no justifica la autoría, ni tampoco la supervisión general del trabajo. El/la autor/a responsable debe asegurar que todas las personas incluidas cumplen realmente los criterios de autoría, y que no se excluye a nadie que también los cumpla.

Financiación: Reconocimiento de las ayudas económicas y materiales que haya podido tener el estudio, e indicar el organismo, la agencia, la institución o la empresa, y el número de proyecto, convenio o contrato. En caso de no contar con financiación externa se hará constar «Sin financiación».

Agradecimientos: Sección donde deben aparecer, si procede, las personas que no reúnen todos los requisitos de autoría, pero que han facilitado la realización del estudio o del artículo. También es un lugar aceptable para citar personas o instituciones que han apoyado el estudio con trabajo o con fondos. Todas las personas mencionadas en la sección de agradecimientos deben conocer y aprobar su inclusión en dicha sección.

Conflicto de interés: Todos los artículos que se envíen deben contener una declaración de los posibles conflictos de intereses de cada una de las personas firmantes. Los conflictos de intereses pueden ser laborales, de investigación, económicos o morales. Los/las autores/as, al enviar el manuscrito, deben indicar por escrito si existe alguno de estos conflictos. El/la editor/ jefe podrá requerir a los/las autores/as que esta declaración de conflictos se amplíe o detalle al máximo cuando lo considere oportuno. De la misma manera, si no hay ningún conflicto de intereses deberán hacerlo constar explícitamente «Sin conflicto de interés». La inclusión de esta información es requisito indispensable en todos los tipos de artículos anteriormente descritos para ser considerados por parte del comité editorial.

Segundo documento (cuerpo del artículo)

Resumen: En consonancia a las normas de ***Journal of Negative and No Positive Results***, algunos trabajos deben contener un resumen (ver apartado sobre tipos y extensión de los artículos). Cuando se requiera un resumen estructurado, sus apartados serán: objetivo, método, resultados, conclusiones. El resumen se debe caracterizar por: 1) poder actuar como sustituto del texto si no se

dispusiera de él; 2) estar desarrollado en términos concretos, mencionando los puntos esenciales del artículo; 3) no incluir citas bibliográficas, materiales o datos no mencionados en el texto; 4) no deberán utilizarse abreviaturas. En los casos en que se debe incluir resumen se debe de hacer en los dos idiomas, español e inglés, en primer lugar irá el correspondiente al idioma del artículo.

Palabras clave: Debajo del resumen se incluirán de tres a diez palabras clave que identificarán el contenido del trabajo para su inclusión en índices y bases de datos. Salvo imposibilidad, deberán coincidir con los términos del *Medical Subject Headings* (MeSH) propuestos por la *U.S. National Library of Medicine*, disponibles en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>. En los casos en que se debe incluir palabras clave se debe de hacer en los dos idiomas, español e inglés, en cada caso debajo del resumen en el idioma correspondiente.

Aportación a la literatura científica: En los artículos originales se incluirá un breve texto en el que se explique lo qué aporta el estudio, con el fin de ofrecer a los/las lectores/as una visión general del contenido más relevante. En este texto no debe copiarse literalmente el contenido del resumen. No contendrá abreviaturas. Es recomendable incluir la siguiente información:

- Describir en un párrafo de 200 caracteres como máximo qué aporta el estudio realizado al conocimiento ya existente.
- Añadir un segundo párrafo (también de 200 caracteres como máximo) en el que se planteen las implicaciones de los resultados obtenidos, para la práctica, y la investigación en general.

Introducción: Será lo más breve posible, tratando de justificar la necesidad del trabajo que se presenta. Conviene centrar el problema con datos actuales. Deberá citarse solamente la bibliografía indispensable, según criterios de actualidad y relevancia en relación con los fines del estudio. No se incluirán datos o conclusiones del trabajo que se publica. El último párrafo de la introducción describirá el objetivo (o los objetivos) del trabajo.

Métodos: Se indicará el ámbito donde se ha realizado la investigación, el período o duración, las características de la serie estudiada, el criterio de selección empleado y las técnicas utilizadas, describiendo con precisión cómo se llevó a cabo el estudio, tipo de diseño utilizado, criterios de inclusión y exclusión, análisis estadístico, etc., y proporcionando los detalles suficientes para que la experiencia pueda repetirse sobre la base de la información aportada. En el caso de las revisiones es muy recomendable describir la búsqueda bibliográfica realizada, los criterios de inclusión y exclusión de los trabajos, el método de evaluación de la calidad de las evidencias encontradas y las técnicas de valoración del resultado que se considera.

Resultados: Describen los hallazgos obtenidos con los materiales y métodos referidos, detallándose tanto los hallazgos positivos como los negativos. Los datos pueden mencionarse en el texto o en forma de tablas o figuras. No deben repetirse en el texto los datos de las tablas o figuras. Se resaltarán o resumirán sólo las observaciones importantes, en línea con el objetivo del estudio.

Discusión: Debe interpretar los resultados, resaltando los aspectos nuevos e importantes del estudio y las conclusiones que de ellos se derivan. Debe relacionar las observaciones que se describen con otros estudios pertinentes. Los autores pueden exponer sus propias opiniones sobre el tema. Se debe discutir: el significado y la aplicación práctica de los resultados; las consideraciones sobre una posible inconsistencia de la metodología y las razones por las cuales pueden ser válidos los resultados; la relación con publicaciones similares y comparación en las áreas de acuerdo y desacuerdo, y las indicaciones y directrices para futuras investigaciones. Por otra parte, debe evitarse que la discusión se convierta en una revisión del tema y que se repitan los conceptos que hayan aparecido en la introducción. Tampoco deben repetirse los resultados del trabajo. Se evitarán las afirmaciones gratuitas y las afirmaciones no apoyadas en los datos.

Tablas: Se presentarán en hojas aparte que incluirán:

- Numeración de la tabla con números arábigos, que se citará en el texto en orden correlativo.
- Título de la tabla en la parte superior y abreviaturas o siglas en la parte inferior.
- Una sola tabla por hoja.

- Cada columna debe llevar un encabezamiento. El contenido deberá ser autoexplicativo y los datos que se incluyan no deben repetirse ni en el texto ni en otras tablas o figuras. La revista admitirá tablas que ocupen hasta un máximo de una página. Por tanto, en el caso de tablas muy extensas, se dividirán en varias partes, indicando en cada una de ellas que se trata de una continuación.
- Cuando se haya efectuado un estudio estadístico, se indicará a pie de tabla la técnica empleada y el nivel de significación, si no se hubiera incluido en el texto de la tabla.

Figuras: Incluirán todo tipo de material no tabular (morfología, algoritmos, histogramas, gráficas, etc.) y se citarán en el texto en orden correlativo. Se remitirán con resolución suficiente y alta calidad, con una flecha indicando la parte superior si no contienen texto. Las leyendas o pies de figuras se escribirán en hoja aparte dentro del archivo del artículo, tras las tablas, indicando el número que les corresponde en caracteres arábigos. En el caso de fotografías de pacientes, estarán realizadas de forma que éstos no sean identificables.

Bibliografía: La bibliografía se presentará según el orden de aparición en el texto, con la correspondiente numeración correlativa en caracteres arábigos. En los casos en que la cita se coloque junto a un signo de puntuación, la cita precederá al signo. En el texto, los números irán en formato superíndice y entre paréntesis. La bibliografía se remitirá como texto estándar, nunca como notas al pie o notas finales. No se aceptarán los códigos específicos de los programas de gestión bibliográfica. Aunque en las bases de datos no aparezcan tildes, las citas de revistas en castellano sí las llevarán.

Se citarán sólo aquellos trabajos que tengan relación con alguna sección del manuscrito, siendo responsabilidad de los autores la adecuada revisión bibliográfica del conocimiento previo en el tema de su investigación. Los revisores considerarán especialmente que toda la bibliografía relevante ha sido valorada.

Las comunicaciones personales y los datos no publicados no se citarán, sino que se hará referencia a ellos en el texto. Los originales aceptados, pero aún no publicados, pueden incluirse en las citas bibliográficas, especificando el nombre de la revista, seguido por «aceptado para su publicación y la fecha de aceptación». En caso de artículos publicados previamente en formato electrónica debe indicarse la fecha de esa publicación.

El formato y estilo de citación debe seguir rigurosamente los «requisitos de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas», disponible en: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

Las abreviaturas de las revistas se ajustarán a las de la *US National Library of Medicine*, página Web de consulta: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>, cuando se trate de una revista no incluida en esta base de datos se pondrá el nombre completo de la revista, sin abreviar.

A continuación se indican los formatos de cita según el tipo de documento que vaya a ser citado:

1. Artículo original o revisión:

Autor/es. Título. Abreviatura internacional de la revista. año;volumen(número):página inicial-página final (sin repetir las decenas, centenas, etc.)

2. Artículo original o revisión en suplemento:

Autor/es. Título. Abreviatura internacional de la revista. año;volumen(suplemento):página inicial-página final (sin repetir las decenas, centenas, etc.)

3. Artículos pendientes de publicación:

Autor/es. Título. Abreviatura internacional de la revista. (pendiente de publicación aceptado "fecha de aceptación")

4. Libros y monografías:

Autor/es. Título. Edición. Lugar de publicación: editorial; año.

5. Capítulo de libro:

Autor/es. Título del capítulo. En: Director/es o Coordinador/es del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: editorial; año.

6. *Informe científico o técnico:*

Autor/es. Título del informe. Lugar de publicación: organismo, agencia editora o patrocinadora; año.

7. *Tesis doctoral:*

Autor. Título. Edición. Lugar de publicación: editorial; año.

8. *Documentos legales:*

Título del documento legal. Nombre de la publicación, número, (fecha de publicación).

9. *Material electrónico:*

Artículo original o revisión de revista digital:

Autor/es. Título. Abreviatura internacional de la revista [revista en Internet]. Año [fecha de consulta]; volumen(número): página inicial-página final (sin repetir las decenas, centenas, etc.)*. Disponible en: URL (no poner punto final para evitar errores al copiar la URL)

*En caso de no tener paginado se indica el número aproximado de pantallas

Monografía en Internet:

Autor/es. Título [monografía en Internet]. Edición. Lugar de publicación: editorial; año [fecha de consulta]. Disponible en: URL (no poner punto final para evitar errores al copiar la URL)

Página Web:

Autor/es. Título de la página [página Web]. Lugar de publicación: Editor; Fecha de creación [Fecha de actualización; Fecha de consulta]. Disponible en: URL (no poner punto final para evitar errores al copiar la URL)

Base de datos en Internet:

Institución/autor. Título [Base de datos en Internet]. Lugar de publicación: Editor; Fecha de creación [Fecha de actualización; Fecha de consulta]. Disponible en: URL (no poner punto final para evitar errores al copiar la URL)

Journal

of Negative & No Positive Results

GUIDELINES OF PUBLICATION IN THE JOURNAL

Editorial policy

Journal of Negative and No Positive Results is an international open-access peer-reviewed journal, focused in negative, neutral or not positive results from research in science, health and pharma.

Articles should be submitted through the online management system. Manuscripts should be prepared according to the latest version of the International Committee of Medical Journal Editors' recommendations (available at <http://www.icmje.org>), and comply with the guidelines outlined therein. Failure to observe these requirements and instructions will inevitably result in a delay in the editorial process and could even result in rejection of the manuscript.

Furthermore, any works submitted that do not follow these guidelines will be sent back to their respective authors, so that they can amend any issues detected, before the editorial process can go on.

Submitted articles must be original and unpublished, and should not be under review in any other journal.

All manuscripts will be subjected to a standard anonymous peer review process. The editorial board shall send every author the reviewer's anonymous report, and they should respond in accordance with the recommendations received. Only then the manuscript will be approved. The editorial board reserves the right to reject any original work that they consider to be unsuitable and to propose any necessary amendments. The letters to the editor may be approved directly by the editor, upon report from the editorial board. Authors who consider an urgent publication of their work to be very important should specify this in their covering letter, including an appropriate justification. Based on the editorial board's judgment, these works shall undergo a priority review process. The statements and opinions expressed in the articles, including possible errors or falseness, are the sole responsibility of their author/s.

Approved articles become the property of *Journal of Negative and No Positive Results*, and they should not be partly or fully reproduced without their permission. Once their work is published, authors sign over exclusive rights to *Journal of Negative and No Positive Results* for the publication, reproduction, distribution, translation and public communication (in any media or format – audio, video, electronic files, etc.) of their work. Authors also grant *Journal of Negative and No Positive Results's* editorial board the right to include their article in national and international indexes or databases. A letter signing over rights to *Journal of Negative and No Positive Results* shall therefore be issued and sent, together with the original work via the online manuscripts management system.

Types of articles and length

Editorial. It may have a scientific or a professional focus based on topics related to the journal's scope, or even on current issues. An editorial may also be published on the author's/s' request and assessed by the editorial board (we recommend prior consultation with the journal's editor/director).

Original. Quantitative or qualitative research related to any aspect of investigation in the fields object of the journal. This type of article should include a brief text before the Introduction explaining the contribution of the study to scientific literature, so that a general outlook of the most relevant content can be offered to the readers (see delivery procedure, second document, contribution to scientific literature).

Original brief. Same features as Original publications but, published in a more concise way.

Review. Review work, preferably systematic, with or without meta-analysis, on relevant and up-to-date issues in the field object of the journal.

Letter to the Director. This section shall include any brief communication commenting on:

- Comments on an article previously published in the journal. Priority will be given to letters making reference to articles that have appeared in the previous edition of the journal and will therefore be published first.
- Comments on the editorial line of the journal, also comments related to current scientific issues, as long as they convey a clear interest in the fields object of the journal.

Recommended manuscript length				
<u>Type of article</u>	<u>Abstract</u>	<u>Text</u>	<u>Tables and figures</u>	<u>References</u>
Editorial	---	2.000 words	1	10
Original	250 structured words	3.500 words	6	30
Original brief	150 structured words	2.000 words	3	15
Review	300 structured words	6.000 words	6	150
Letter to the Editor	---	400 words	1	5

Presentation of manuscripts

Formal aspects of the article

Journal of Negative and No Positive Results publishes articles in Spanish and English. When submitted in English, the article must be previously reviewed by an English native speaker and it should always include abstract and keywords both in Spanish and English if required by type of article.

Text files should be sent in Word format, keeping an interline spacing of 1.5 in all sections, 2 centimeters margins and page numbering in the lower-right hand corner of the page. Abbreviations should be avoided in the title and abstract of the work. The first time an abbreviation appears in the text it must be preceded by the complete term it refers to, except in the case of metric units, which will be expressed in the International System of Units. Decimal figures should be separated from units using a comma and thousands should be indicated using a full stop (for articles in English). Articles in English should follow the corresponding punctuation marks (using a full stop for units and a comma for thousands).

Recommendations for publishing

Journal of Negative and No Positive Results adheres to the International Committee of Medical Journal Editors' latest version of Uniform Requirements for manuscripts submitted to biomedical journals (official version available at: <http://www.icmje.org/>).

When reporting clinical trials, the guidelines by the Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, should be followed (available at: <http://www.aemps.gob.es/investigacionClinica/medicamentos/ensayosClinicos.htm>); the author/s must be registered under the Spanish registry of clinical studies (the identification code must be stated in the article to be published).

Adherence to ethical recommendations

Before any studies are sent in and whenever humans or animals are involved in the tests, previous evaluation and authorization from research or clinical trials committees must be obtained as well as confirmation of adherence to the basic principles of the *World Medical Association's* Helsinki Declaration (text available at: <http://www.wma.net/es/20activities/10ethics/10helsinki/>).

More specifically, it should be stated that patient's data were collected after signing an informed consent form whenever necessary. Furthermore, authors must state that they followed all the established protocols, from their respective health centres, to gain access to the clinical histories data in order to carry out this type of research/dissemination aimed at the scientific community. Each and every one of these conditions should be clearly detailed in the Methods section.

Submission procedure

Articles must be submitted online via the Website <http://www.jonnpr.com>, where all the information regarding the submission of works can be found. It is also possible to follow and track the status of submitted works through this Website.

Articles should be uploaded onto the system in several files:

- The first document should include the title page, a covering letter, an authorship statement, funding, acknowledgments and conflicts of interest.
- The second document should include the main body of text (abstract and key words, introduction, methods, results, discussion, references, tables and figures captions).
- Figures.

Detailed instructions can be found in the online submission system.

Review process: After reviews are received, authors should return, together with the revised version, a detailed explanation of all edits and changes incorporated (following recommendations by the experts' reports and those from the journal's editorial board).

First document

Title page: It should include the manuscript title, authors' information and their affiliations, the name and address of the corresponding author, the abstract word count and manuscript word count.

The title provides an accurate and concise description of the article, in one single sentence (generally no more than 15 words). Acronyms, codes and symbols which are not of common use should be avoided.

Title into English and Spanish must be included.

Authors will state their name (unabbreviated) followed by one (or two) surnames. The authors' institutional address should be specified on the next line. Authors' academic degrees/categories are not to be included. Group authorship requirement must be taken into account. We recommends authors define their "bibliographic name" with a single surname (two surnames linked by a hyphen where necessary), in order to prevent any possible confusion in the bibliographic references databases. Authors who include two surnames when sending the manuscript should be aware that both surnames will be published the heading of the article; the reference with the two surnames will be sent to the databases where it is indexed, and the journal shall bear no responsibility for possible confusions with subsequent references to the author.

The title page should list the corresponding author's name, complete address, phone number and e-mail. If approved, the postal address and e-mail will be shown on the first page of the article.

Word counts should be indicated specifying the number of words in the abstract in Spanish and English, and the total word count of the main text (first page, abstract, references, tables and figures excluded).

Cover letter: It should include a short paragraph presenting the main message of the article, its contribution to previous knowledge, its originality and relevance. The cover letter must state:

- The type of article, notwithstanding the final decision of the journal's editorial board.
- That the work has not been previously published, and it is not being reviewed by any other journal.
- That the appropriate permission to reproduce material that has already been published (if it is the case) has been obtained and that those permissions will be submitted to the journal once the work is accepted for publication.

- Indication and justification, when necessary, for the need to process the publication quickly due to the special relevance of the emerging data or because the data may rapidly become obsolete.

A statement indicating compliance with the journal's guidelines must also be included. This section should include declarations regarding any possible works that could be considered redundant, as well as any other occurrence that could be of relevance to the Editor in chief of ***Journal of Negative and No Positive Results***.

Statement of authorship: This section should include a paragraph that clearly specifies the contributions from each one of the authors, both the research work and preparation of the manuscript. The standard requirements for submitting manuscripts to scientific journals establish that authorships must be based on a substantial contribution, simultaneously granted to:

- The conception and design of the work, data collection or analysis, and interpretation.
- The writing of the article or its critical review through important intellectual contributions.
- The approval of the final version for publication.

All of these conditions must be fulfilled, as the exclusive participation in certain limited tasks such as the search for and collection of funds, the collection of data, or the statistical analysis, does not justify the authorship, neither does the general supervision of the work. The responsible author in charge must guarantee that all participants included fulfill the authorship criteria and that no one fulfilling the criteria is excluded.

Funding: Financial and material support to the study must be acknowledged, indicating the supporting body, agency, institution or company, as well as the project, agreement or contract number. In the event that no external funding is received, "No financial support was received for this study" should be stated.

Acknowledgements: This section may include the names of those individuals who are not eligible for authorship, but who have contributed to the study or to the article. Individuals or institutions having supported the study through their work or funding may equally be mentioned here. Individuals mentioned in the acknowledgements section must be informed and give their approval before being included in this section.

Conflicts of interest: All articles submitted must be accompanied by a declaration of any possible conflicts of interest from each one of the signatories. Conflicts of interest may be derived from work, research, financial relationship or moral issues. When submitting their manuscript, authors must indicate in writing the existence of any of these conflicts. The Editor in chief may require authors, affected by the conflict of interest, to extend upon or go into further detail whenever appropriate. It should also be explicitly stated in the article when there are no conflicts of interest by stating "No conflict of interest". The inclusion of this information is a *condicio sine qua non* for all of the types of articles previously described to be considered by the editorial board.

Second document (main body of the article)

Abstract: According to ***Journal of Negative and No Positive Results's*** guidelines some works must have an abstract (see section on types and length of articles). When a structured abstract is required, it should include the following sections: objective, method, results, conclusions. The abstract should 1) work as a substitute for the text when the latter is not available; 2) be developed in concise terms, with reference to the main ideas of the article; 3) not include references, materials or data which are not mentioned in the main text; 4) not use abbreviations. Abstracts should be written in both, Spanish and English, presenting first the one that corresponds to the main language of the article.

Key words: Three to ten key words are to be included at the end of the Abstract; these words will serve to identify the content of the work for its inclusion in indexes and databases. Unless it is not feasible, the key words should match the indications from the *Medical Subject Headings* (MeSH)

proposed by the *U.S. National Library of Medicine*, which are available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>. Key words should be written in both, Spanish and English, presenting first the one that corresponds to the main language of the article.

Contribution to scientific literature: Original articles should include a brief text explaining the contribution of the study, so that readers can have a general view of the most relevant contents. The content of the abstract must not be copied here. Abbreviations should not be included. It is advisable to include the following information:

- Description (200 characters maximum) detailing the contribution of the study to existing knowledge.
- A second paragraph (200 characters maximum) will explore the implications of the findings for future research.

Introduction: It must be as brief as possible, trying to justify the need for the presented work. The subject should be focused on current data. Only essential references should be included, mainly current topics, according to their relevance in relation to the aims of the study. It should not include data or conclusions from the published work. The last paragraph of the introduction will explain the work's objective/s.

Methods: This section should state the field of research, the period or duration, the characteristics of the series studied, the selection criteria and the techniques applied, with a precise description of how the study was carried out, the study design, inclusion and exclusion criteria, treatment guidelines, statistical analysis, etc., and it must include sufficient details for the repetition of the study based on the given information. In the case of reviews, we strongly recommend describing the references search, the inclusion and exclusion criteria, the method of quality assessment for the evidence found and the techniques used to assess the results.

Results: Description of the findings obtained with the materials and methods referred, detailing both positive and negative outcomes. Data can be mentioned in the text, or as tables and figures. The text must not include repeated data from the tables or figures. Only important observations will be highlighted or summarized, always in line with the study objective.

Discussion: Interpretation of the results, highlighting new and important aspects of the study and the conclusions derived from them. This section must establish the association of the observations described with other relevant studies. Authors may give their own opinions on the subject. This section should also include a discussion on the meaning and practical application of the results; the considerations of a possible inconsistency in the methodology and the reasons justifying the validity of the results; the association with similar publications and a comparison of the agreement and disagreement areas, together with indications and guidelines for future research. The discussion however should not become a review of the subject, with a repetition of concepts already presented in the introduction. A repetition of the study results should also be avoided. Also to be avoided are speculative statements and those without a solid basis on data.

Tables: Tables must be presented in separate pages including:

- Table numbering with Arabic numbers, corresponding to the numbering cited in the text.
- Heading at the top of the table and abbreviations or acronyms at the bottom.
- Just one table per page.
- Each column should have a heading. The content should be self-explanatory and included data should not be repeated in the text or in other tables or figures. The journal will admit tables occupying a maximum extension of one page. Therefore, in the case of very large tables, these will be divided in several parts, indicating it is a continuation for each of those parts.
- When including a statistical study, the table will show a footnote indicating the technique used and the level of signification, if it is not included in the text of the table itself.

Figures: Figures should include all kind of non-tabular material (morphology, algorithms, histograms, graphics, etc.) and should be cited consecutively in the text. Figures should be of an adequate resolution and high quality, with an arrow indicating the upper most section when they lack text. The legends or figures captions should be written on a separate page in the article file, after the tables, indicating their respective number in Arabic numerals. When pictures of patients are included, they should be shown in such a manner that the subjects cannot be identified.

References: References will be presented following the order of appearance in the text, tables or figures, with the corresponding correlative numbering in Arabic characters. When a reference citation is placed by a punctuation mark, the citation will precede the mark. In the text, numerals will keep a superscript format. References will be written as standard text, not as foot notes or final notes. Specific codes of programs for the processing of literature and references will not be accepted. Citations of journals in Spanish will maintain diacritical marks even if these are not kept as such in databases.

Only works with some relation to a specific section of the manuscript will be cited, and the authors will be responsible for an adequate bibliographic review of the existing knowledge within the subject of investigation. Reviewers will specifically check that every relevant reference has been taken into account.

Personal communications and unpublished data shall not be cited, but instead they will be referred to in the text. Original works accepted, but not published yet, may be included in the bibliographic references, with specification of the name of the journal, followed by the mention "accepted for publication" and the date of acceptance. In the case of articles previously published in digital media, the date of publication shall be indicated.

When citing, format and style "uniform requirements for manuscripts sent to biomedical journals" must be followed strictly, available at: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

The journals' abbreviations should follow those listed in the *US National Library of Medicine*, available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>. When the journal is not included in database, the complete name of the journal should be written with no abbreviations.

The following reference formats are listed according to the type of document to be cited:

1. *Original article or review:*
Author/s. Title. International abbreviation of the journal. Year;volume(number): first page-last page (with no repetition of tens, hundreds, etc.).
2. *Original article or review in supplements:*
Author/s. Title. International abbreviation of the journal. Year;volume(supplement): first page-last page (with no repetition of tens, hundreds, etc.).
3. *Articles awaiting publication:*
Author/s. Title. International abbreviation of the journal. (*awaiting publication* accepted "approval date")
4. *Books and monographies:*
Author/s. Title. Edition. Place of publication: editorial; year.
5. *Chapter of a book:*
Author/s. Title of the chapter. In: Editor/s of the book. Title of the book. Edition. Place of publication: editorial; year.
6. *Scientific or technical report:*
Author/s. Title of the report. Place of publication: institution, publishing or sponsoring agency; year.
7. *Doctoral thesis:*
Author. Title. Edition. Place of publication: editorial; year.
8. *Legal documents:*
Title of the legal document. Name, number, (publication date) of the publication.

9. *Digital material:*

Original article or review of the digital journal:

Author/s. Title. International abbreviation of the journal [Internet journal]. Year [consultation date];volume(number):first page-last page (with no repetition of tens, hundreds, etc.)*. Available at: URL (to avoid any possible mistakes do not place a full stop at the end of the URL address)

*When no numbering is available, there should be an indication of the approximate number of screens

Monography on the internet:

Author/s. Title [Internet monograph]. Edition. Place of publication: editorial; year [date of consultation]. Available at: URL (to avoid any possible mistakes do not place a full stop at the end of the URL address)

Web page:

Author/s. Page title [Web page]. Place of publication: Editor; Date of creation [Date of update; Date of consultation]. Available at: URL (to avoid any possible mistakes do not place a full stop at the end of the URL address)

Internet database:

Institution/author. Title [Internet database]. Place of publication: Editor; Date of creation [Date of update; Date of consultation]. Available at: URL (to avoid any possible mistakes do not place a full stop at the end of the URL address)

Journal

of Negative & No Positive Results

Sumario

Volumen 1. Número 6.
Noviembre 2016

Editorial

- 199 **Hacen lo que saben sin saber lo que hacen**
Antonio Zarazaga Monzón

Original

- 201 **Modelo geométrico y matemático aplicado a la biomecánica de la región lumbar en atletas de halterofilia.**
Fernando Blaya-Haro, Pilar San-Pedro-Orozco, Juan A. Juanes-Méndez, Luis T. Gallego-Morales, Ángeles Franco-López, José A. Rodríguez-Montes
- 210 **Nulo efecto bactericida de la radiación ultravioleta emitida por diodos LED.**
Francisco Alcántara Muñoz, Rafael Moreno-Rojas, Alicia Moreno Ortega, José Emilio Muñoz Cañete y Rafael Gómez Díaz
- 216 **Los probióticos no mejoran los beneficios de un protocolo hospitalario de tratamiento de la diarrea aguda en el lactante.**
Sergio Santana Porbén, Eduardo Piñeiro Fernández, Rafael Jiménez García, Stefanie Marcela Ruiz Fallas
- 224 **Influencia del sueño sobre el exceso de peso en niños y adolescentes.**
Víctor Paredes Barato, Ismael San Mauro Martín, Elena Garicano Vilar, Esther Moraleda Ponzola, Sara López Oliva, Sara Sanz Rojo, Petar Petrov
- 229 **La respuesta de marcadores de enfermedad cardiovascular al consumo de cárnicos con composición grasa mejorada depende de los niveles iniciales de LDL-colesterol.**
Paloma Celada, Francisco José Sánchez-Muniz, Gonzalo Delgado-Pando, Sara Bastida, Manuel Espárrago-Rodilla, Francisco Jiménez-Colmenero, Begoña Olmedilla-Alonso

Journal

of Negative & No Positive Results

Content

Volume 1. Issue 6.
November 2016

Editorial

- 199 **They do what they know but they dont know what they do.**
Antonio Zarazaga Monzón

Original

- 201 **Application of a geometric and mathematical model to the biomechanics of the lumbar region in weightlifting athletes.**
Fernando Blaya-Haro, Pilar San-Pedro-Orozco, Juan A. Juanes-Méndez, Luis T. Gallego-Morales, Ángeles Franco-López, José A. Rodríguez-Montes
- 210 **Null bactericidal effect of ultraviolet radiation emitted by LEDs.**
Francisco Alcántara Muñoz, Rafael Moreno-Rojas, Alicia Moreno Ortega, José Emilio Muñoz Cañete y Rafael Gómez Díaz
- 216 **Probiotics do not improve the benefits of a hospital treatment protocol for acute diarrhea in the breastfed child.**
Sergio Santana Porbén, Eduardo Piñeiro Fernández, Rafael Jiménez García, Stefanie Marcela Ruiz Fallas
- 224 **Influence of sleep upon overweight in children and adolescents.**
Víctor Paredes Barato, Ismael San Mauro Martín, Elena Garicano Vilar, Esther Moraleda Ponzola, Sara López Oliva, Sara Sanz Rojo, Petar Petrov
- 229 **Cardiovascular disease markers responses in male receiving improved-fat meat-products vary by initial LDL-cholesterol levels.**
Paloma Celada, Francisco José Sánchez-Muniz, Gonzalo Delgado-Pando, Sara Bastida, Manuel Espárrago-Rodilla, Francisco Jiménez-Colmenero, Begoña Olmedilla-Alonso



Editorial

Artículo español

Hacen lo que saben sin saber lo que hacen.

They do what they know but they don't know what they do.

Antonio Zarazaga Monzón

Profesor Colaborador de la Universidad Autónoma de Madrid

Jefe de Sección de Calidad en Servicio de Cirugía de Hospital Universitario, hasta 2010, España

*La verdadera ignorancia no es la ausencia de conocimientos, sino el hecho de negarse a adquirirlos.
Karl Popper¹.*

Cuando nuestro grupo de trabajo^{2 3 4} decidió investigar sobre la monitorización de resultados clínicos en la práctica quirúrgica, ya contaba con dificultades conocidas o sospechadas por cualquier cirujano en ejercicio. Era por todos conocido que las bases de datos genéricas hospitalarias existentes, y lo que es peor, las venideras, se preocupaban más de acumular datos económico-administrativos que de aportar datos fiables y útiles para que el clínico sacara conclusiones sobre su evolución personal o de su unidad y tomara las decisiones oportunas. Lo que nuestro grupo desconocía era que la investigación iba a transformarse en un proceso de "arqueología del conocimiento". Es decir, confirmación de datos fiables a partir de información incompleta, errónea e incluso inexistente. El desarrollo de una Base de Datos Interrelacionada (BDI) (La relación entre dos BD permite la obtención de datos inexistentes en ambas), unido a un procedimiento "depurador" (cirujano auditor), permitió la obtención una BD con variables fiables y útiles para el clínico.

Y ahora hablemos de las sorpresas o dificultades inesperadas. Las BD hospitalarias no tenían errores administrativos, pero existían dos variables desconsideradas: el proceso y el procedimiento (¡nada menos!). Se establecieron 4 grados de *discrepancia* entre el procedimiento quirúrgico realizado y lo registrado en las BD. En la toma de decisiones clínicas se exigiría un grado 0, para la elaboración de Grupos Diagnósticos Relacionados (GDR) y evaluaciones administrativas, podrían incluirse las de grado 1. En la discrepancia grado 2 el procedimiento es muy diferente al realizado, y en el grado 3 estamos ante un registro erróneo o falso. En el Conjunto Mínimo Básico de Datos (CMBD) las discrepancias (grados 2 y 3) supusieron el 27,7% de los registros y en HP-HIS el 25,2%. Las áreas quirúrgicas con mayor porcentaje de registros discrepantes en CMBD y HP-HIS fueron procedimientos quirúrgicos rectales (25,3% y 21,4%) y cólicos (17,2% y 20,7%). El porcentaje de discrepancia aumentó con la complejidad quirúrgica. Dejemos las conclusiones para el final.

Otras sorpresas. Al intentar valorar resultados: óptimos y eventos adversos (EA) apreciamos una gran variabilidad. Respecto a la definición, medición de los EA, y la gravedad de estos, no existe un acuerdo universal, lo que dificulta su integración y la aplicación de estándares. En algo tan concreto como la mortalidad, la variabilidad es cuantiosa: postoperatoria, quirúrgica, ocurrida en el servicio quirúrgico, hasta los 30, 60 o 90 días, excluyendo reingresos, muertes en otros servicios (como reanimación), aunque la muerte sea consecuencia de una intervención quirúrgica por una complicación de la intervención primitiva. Lo mismo consideramos respecto a la definición de otros EA, como dehiscencias, clínicas o asintomáticas, fistulas, eventraciones, reingresos, reintervenciones a largo plazo, etc...

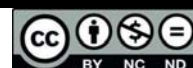
¿Acaso nuestras intervenciones tienen un periodo de garantía? ¿Las eventraciones postoperatorias o la reproducción de las hernias, las estenosis anastomóticas, las secuelas, no son fracasos o EA? **Causa causae est causa causati. La causa de la causa es la causa de lo causado.**

Ello nos llevó a buscar los llamados **EA desapercibidos** considerando como tal una lesión o daño no intencional causado al paciente por la intervención asistencial, y no por la patología de base, inexistente en las Bases de Datos o desubicado por estar imputado a otras unidades o especialistas. Esta situación se favorece por los criterios de sistematización informática existentes en las BD genéricas hospitalarias.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ant.zarazaga@gmail.com (Antonio Zarazaga Monzon).

Recibido el 18 de agosto de 2016; aceptado el 26 de agosto de 2016.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

Consecuencias:

La **mortalidad desapercibida** en determinados procedimientos analizados de cirugía de colon (465 pacientes) puede alcanzar el 50% (8 pacientes de 16 fallecidos) y el de **reintervenciones desapercibidas** un 43,06% (de 137 reintervenciones realizadas, 59 eran tardías y desapercibidas.) No olvidemos las eventraciones y las reintervenciones de esas propias eventraciones. De 4.548 pacientes intervenidos de todos los procedimientos ofertados en la cartera de servicios, el número de pacientes reintervenidos en los **primeros 30 días** fueron 170 pacientes (**3,73%**). Reintervenidos entre los 30 y 60 días 30 pacientes (4,39%). Reintervenidos entre los 60 y 100 días 12 pacientes más, y reintervenidos a más de 100 días 131 pacientes. En total el porcentaje de pacientes reintervenidos a más de 100 días había aumentado de un 3,7% al alta a un 7,54%, en un total de 343 pacientes. El total de reintervenciones fueron 606 (13,25%), ya que algunos pacientes sufrieron varias reintervenciones (El 27,7% más de dos).

Resumiendo, la falta de consenso sobre cómo definir y valorar los acontecimientos adversos postoperatorios ha dificultado en gran medida la evaluación del proceso quirúrgico. Los datos son incomparables. Esto no sólo ha dado lugar a resultados engañosos, sino que favorece la *manipulación* de los datos. La principal barrera, para el uso de los sistemas informáticos es la poca diligencia de los médicos para completar la información clínica necesaria y significativa en la historia clínica. Consecuentemente, se desarrollan bases de datos hospitalarias oficiales con datos redundantes, ambiguos, erróneos, discrepantes y en ocasiones ausentes, útiles para generar estadísticas de carácter económico o administrativo, pero inservibles para cualquier tipo de investigación científica basada en ellos. Los datos que alimentan a la administración y que le permiten generar cuadros de mandos de la actividad quirúrgica (estancias medias, actividad y ocupación de quirófanos, etc.) e incluso los utilizados GRD's, con sus conclusiones coste-utilitarias, son más "groseros" que los que necesitarían los cirujanos para alimentar un sistema que valorara resultados clínicos y permitiera tomar decisiones terapéuticas. Las BD genéricas hospitalarias tienen claras ventajas sobre las BD específicas: permiten detectar EA que se presentan fuera de los servicios quirúrgicos, abarcan un gran período de tiempo permitiendo calcular tendencias y detectar EA distantes, y la diversidad de elementos almacenados permite la búsqueda de asociaciones inesperadas. Sin embargo presentan sus propios inconvenientes, como son imprecisiones, errores y ausencias en variables clínicas importantes, por lo que es preciso realizar un proceso depurado por el propio clínico responsable.

Hasta este momento podíamos alegar desconocimiento, pero desde ahora, estamos advertidos, y si no asumimos nuestra responsabilidad, solo podremos aferrarnos a la ignorancia (*¡Ni lo sé, ni me importa!*).

Referencias / Referencias

1. Popper, Karl (1934). The Logic of Scientific Discovery. New York: Routledge (publicado el 2009). ISBN 3-16-148410-X.
2. Martín-Vega, A, Zarazaga, A, Rodríguez-Montes, J.A: Desarrollo de una base de datos interrelacionada para la toma de decisiones clínicas en un Servicio de Cirugía General. Rev Esp Inv Quir 2015; 18(4):151-156.
3. Martín-Vega, A, Zarazaga, A, Rodríguez-Montes, J.A: Fiabilidad de la base de datos interrelacionada para la toma de decisiones clínicas en un Servicio de Cirugía General. Rev Esp Inv Quir 2015; 18(4):157-163.
4. Martín-Vega, A, Zarazaga, A, Rodríguez-Montes, J.A: Monitorización de eventos adversos en un Servicio de Cirugía General mediante una base de datos interrelacionada. Rev Esp Inv Quir. 2015; 18(4):164-170.



Original

Artículo bilingüe (inglés/español)
English version

Application of a geometric and mathematical model to the biomechanics of the lumbar region in weightlifting athletes.

Modelo geométrico y matemático aplicado a la biomecánica de la región lumbar en atletas de halterofilia.

Fernando Blaya-Haro¹, Pilar San-Pedro-Orozco¹, Juan A. Juanes-Méndez², Luis T. Gallego-Morales³, Ángeles Franco-López⁴, José A. Rodríguez-Montes³.

¹Departamento de Ingeniería Mecánica, Química y Diseño Industrial. E.T.S. de Ingeniería y Diseño Industrial. Universidad Politécnica de Madrid. España.

²Departamento de Anatomía Humana. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca. España

³Hospital Universitario La Paz. IdiPAZ. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. España

⁴Servicio de Radiología, Hospital Universitario de Sant Joan, Alicante. España.

Abstract

Introduction: The lumbar spine plays an important role in the biomechanics of the individual as well as contributes to define the posture.

Material and methods: In this study we have proposed a geometric and mathematical model in the subjects who practice the sport of weightlifting, in order to evaluate and characterize graphically the morphology of the lumbar spine in the sagittal plane to define, analyze and predict its behavior.

Results and discussion: The technical aspect of weightlifting is very precise and requires excessive joint mobility of the lumbar spine in the same time when it is integrating certain axial compressive forces due to the weight to be lifted. The scope of the results obtained in the geometric and mathematical models are of great interest due to their methodological significance for professionals who dedicate to the study and measurement of spine from different perspectives such as biomechanics, geometric, diagnostic, medical, physiotherapeutic, athletic, etc.

Conclusions: We believe that the results obtained by the proposed models are relevant for the systematization and posture modeling of the individual, once the dependency relationships are formulated between the proposed variables, thereby extending the study to other regions and fundamental concepts in the overall analysis of posture.

KEYWORDS

Biomechanics; lumbar spine; postural variables; weightlifting.

Resumen

Introducción: La columna lumbar juega un papel relevante tanto en la biomecánica del individuo como en la aportación a la definición de su postura.

Material y métodos: Planteamos un estudio geométrico y matemático, en sujetos que practican la disciplina deportiva de Halterofilia, con el fin de valorar y caracterizar gráficamente la morfología del raquis lumbar en su plano sagital, para poder así definirlo, analizarlo y predecir su comportamiento.

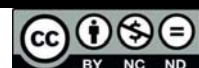
Resultados y discusión: La Halterofilia es un deporte cuya ejecución técnica es muy precisa y requiere gran movilidad articular de la columna lumbar a la vez que soporta fuerzas de compresión axial por el peso a elevar. El alcance de los resultados obtenidos en los modelos geométrico y matemático resultan de interés por su utilidad metodológica para aquellos profesionales que se dediquen al estudio y medición del raquis desde distintos ámbitos: biomecánico, geométrico, diagnóstico, médico, fisioterápico, deportivo, etc.

Conclusiones: Consideramos que los resultados obtenidos en los modelos propuestos son relevantes para la sistematización y modelización postural del individuo, una vez se formulen las relaciones de dependencia entre las variables propuestas ampliando el estudio a otras regiones y conceptos fundamentales en el análisis global de la postura.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: luis.gallego@salud.madrid.org (Luis T. Gallego Morales).

Recibido el 29 de agosto de 2016; aceptado el 5 de septiembre de 2016.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

PALABRAS CLAVE

Biomecánica; columna lumbar; variables posturales; Halterofilia.

Introduction:

The lumbar spine is basically a structure of mechanical character that holds the maximum load of our body. Approximately 90% of lumbar disorders correspond to mechanical alterations of vertebral structures, caused by improper operation of that section of the vertebral column^{1,2,3}.

The top athlete after years of training transforms or adapts a physique that is required according to the demands of the sport specialty hence changing the morphology of the vertebral column, which supposedly occurs in a similar fashion in all practitioners of this specialty^{4,5}.

Sports that require training including intense weights to strenuous workout, such as weightlifting, can increase the load on the lumbar spine and pose significant lumbar spine problems to the athlete^{2,6,7,8}.

Weightlifting is a sport that is always practiced under same rules and conditions for all athletes⁸. Its technique is very accurate and requires a specific joint mobility of the lumbar region at the same time when it supports axial compressive forces in the handling and lifting the barbells^{9,10}. Weightlifting involves a movement that goes from upright position to a deep flexion of the hip, knee and ankle, and from this position going back to upright position lifting the weight. Therefore, the lower back is the key anatomical region, in the technique of this sport, as it has to adjust to the movement required under flexion and hip extension and also compensate for the imbalance produced in other areas to overcome the weight. In this sport modality several factors are involved, among which we mention neuromuscular coordination, proprioception, joint flexibility, the proportion in bone levers, development of strength and speed of execution, and coordination of all joint segments members lower, hip, torso and upper limbs simultaneously.

Weightlifting technique has two specialties: 1. Snatch, involving a movement that requires high speed and precision in addition to rapid force in the legs and torso and great flexibility in all joints. 2. Clean and jerk: clean, where the bar goes from the platform to the shoulders, and jerk, where the bar goes from the shoulders to overhead on straight arms; consisting of bending, braking and extension of the legs.

Therefore, it is clear that in weightlifting, the lumbar area is under pressure by the weight load and the compression action of the lumbar muscles. In addition, the vertebrae are burdened by excessive compression in flexion and extension movements, in an irreversible manner because of maintaining forced postures during training⁹. The pressure inside the disc varies depending on body position and the external stress. The selection of this sport for the present study is due to the reason that this specialty is always practiced in the same conditions for all athletes, regarding the characteristics of the material, the bar and discs, clothing and shoes, the stage and in being independent of the external conditions.

Undoubtedly during training the athlete needs to introduce an ever more specific preparation in all aspects: physical, tactical, technical, psychological, medical control in various specialties such as stress testing, cardiology, endocrinology, but also a stabilographic and postural analysis, due to which personal morphological characteristics, deviations from normality and sequelae of previous injuries are observed.

Given these considerations, our objective was to apply a geometric and mathematical model, based on a system of measuring parameters of the spine in the lumbar region, which allows describing graphically the morphology of the lumbar spine in the sagittal plane of weightlifting athletes, in order to define, analyze and then simulate its behavior. This study and analysis of results will permit to act accordingly and achieve optimal predisposition for sports performance, which will certainly help to prevent injuries in the locomotor system and spine.

This geometric model is to be performed on a representative sample of the group of top weightlifting athletes, members of the Spanish national team and regional teams in official competitions.

Methods

The group of people considered for our study belongs to the population of top weightlifting athletes. We studied 77 athletes (48 men and 29 women). The group was heterogeneous regarding sex, age and weight, but the factors such as training, preparation, requirements and the technique practiced by the subjects were the similar. Radiographic data were obtained from the Center for Sports Medicine, Superior Council of Sports of Madrid.

A study was carried out including three radiological analysis i.e. anteroposterior teleradiography of full length of the vertebral column; lateral (sagittal) plane of lumbosacral region and anteroposterior thorax. The sagittal section of the lumbosacral region was chosen for this study.

In order to perform these analyses the subject was made to stand in an upright position in a relaxed and natural way without moving and provided with the instructions on when to take a full breath, holding the breath until the firing signal and completion of the test. As all the tests followed a proper protocol, technical rigor of the firing shots, indications received by the subjects, position, place, distance to the focus and the screen, and mode of action were all the same.

Once the digital files of radiographic analysis were collected, data treatment was done using the software AutoCAD 2015. The results obtained from the radiological analysis of each lumbar spine section were images that show the values of the geometric variables (Figure 1).

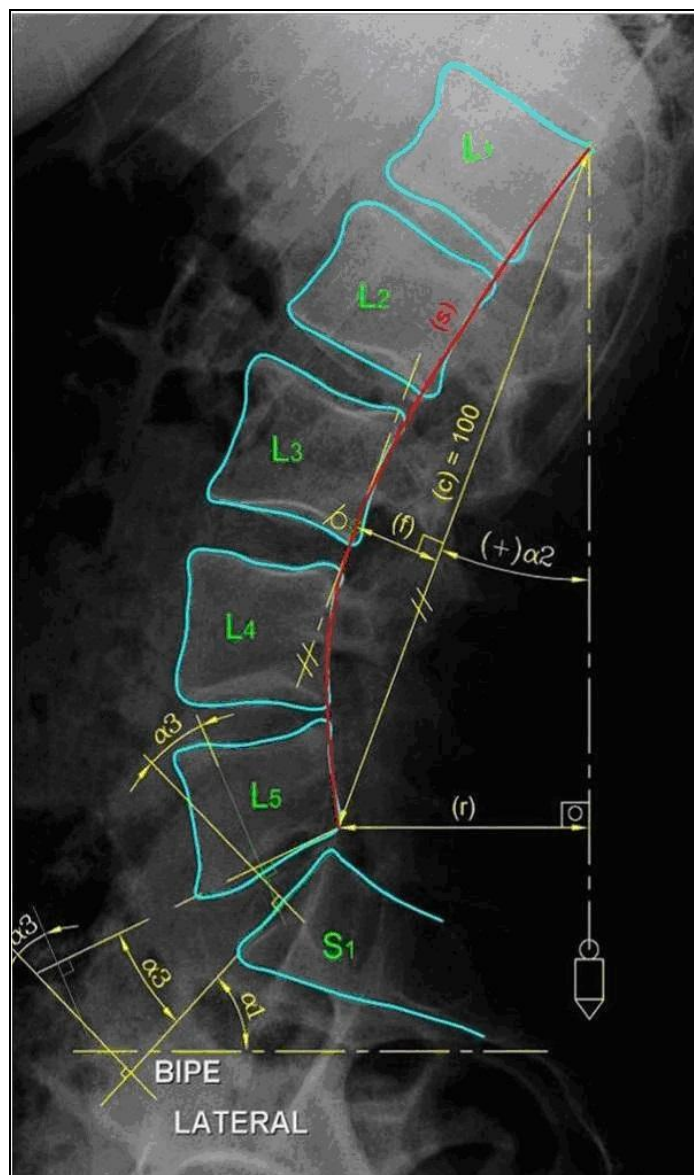


Fig. 1.- Radiological image representing the employed geometric variables

It should be noted that both the data provided by the each individual in the group and the digital files of radiographs used were associated with a numerical identification code, provided by the Superior Council of Sports, in order to ensure the anonymity and protection of personal data. The data recorded from the radiographic measurements was associated to the numerical code linked to each person.

Geometric Model:

The geometric model was supported by a system based on the measurement of parameters of the spine in the lumbar region, which allowed us to graphically describe the morphology of the lumbar spine in the sagittal plane, in order to define, analyze and simulate their behavior posteriorly.

The parameters obtained from the geometric measurement of the curves were used as variables in the study of this graphic model of lumbar curvature that fits into its actual contour allowing us to work with the concept of posture. To this end, some variables were taken which when considered jointly provided us with a graphical representation of the lumbar morphology. These variables provided concepts and understanding to define and assess the position of the lumbar region.

Obtaining comparable models of lumbar curvature, between individuals of different morphology and size, or circumstances such as unavailability of radiological samples on full-scale, forced us to develop a proportional geometric transformation, following the curves obtained, to fit them according to the unique references in order to ensure an objective comparison.

In order to achieve the comparison between the characteristic measurements of the lumbar curves, not taking into account the differences in the size of the subjects, or the fact that full scale radiological evidence was not available in the original or digitalized form; the proposed method consisted in setting a reference segment over the radiological test/report, in our case L₁-L₅, lumbar cord, maintaining the vertical reference of the test and apply a homothetic transformation of the image with reference of proportionality

Length of L₁-L₅ (lumbar cord) = 100 units

and homothetic origin or center at the vertex of the cord (postero-superior vertex of the L₁ vertebra). This allowed us to achieve that the size of the lumbar cord is same and the lumbar curves can be overlapped for comparison making them coincide with the superior extreme end of the same lumbar cord. The longitudinal variables are made relative to a reference segment of the same length and therefore its relevance to the curve is comparable.

Postural Variables used:

The spinal variables obtained from measurements made on the radiographic analysis were as follows:

Sacral angle (α_1): measured between the upper face of S₁ or Sacral and horizontal plate. Its value determines how the sacrum receives the vertebral column especially L₅. The ideal angulation of the S₁ upper and horizontal face is about 34°.

Reversion angle (α_2): comprised between the lumbar cord and a line drawn from the postero-superior vertex of the vertebra L₁. When the lumbar cord and line coincide the lumbar curvature the angular value would be 0 (the section considered to classify a reversal as neutral will be between -1° and +4°). When there exists an anterior inclination in the lumbar curvature, the reversion angle will be negative and in case of posterior inclination will be positive.

Lumbar cord (C_L): corresponds to the length of the segment L₁-L₅, where L₁ is the postero-superior vertex of the vertebra L₁ and L₅ is the postero-inferior vertex of the vertebra L₅. In our study, this will be a constant value equal to 100 to be considered as a reference for the comparison in percentage of the linear parameters.

Degree of Lordosis (D_L): the relation between the length of arch_{max} and lumbar cord.

$$D_L = \frac{\text{length of arch max}(f)}{\text{length of lumbar cord}(c)}$$

It is an indicator of the degree or extent of lordosis of the curve like the lordosis arch.

Lumbar spinal index (I_{SL}): It is the relation between the length of lumbar cord (c) and the lumbar curve (s)

$$I_{SL} = \frac{\text{length of lumbar curve}(S_L)}{\text{length of lumbar cord}(C_L)}$$

This value indicates how many times the circumference of the lumbar curve is greater than the straight section covering lumbar cord and measures the degree of deviation of the lumbar curve relative to the cord, without taking into account the considerations of the curvature type. In other words, it makes a comparison between the length of the lumbar curve developed and the length that is covered by the cord.

Height of lordosis: it is the position of maximum arrow of the curve. Its position is found to the tangent of the lumbar curve in a direction parallel to the lumbar cord L₁-L₅. This height represents the lumbar curve vertex and is found at the point where maximum arrow is considered. If the vertex is found in the lumbar vertebra L₃, the lumbar curve will have a more homogeneous morphology and the pressures between all lumbar will be better distributed and from lumbar upwards to the dorsal ridges and down to the sacrum and pelvis.

The mathematical model. In order to develop the mathematical model, two groups of variables were established, classified on the basis of their origin and source. Thus, those variables drawn from the personal files of sample data of weightlifting athletes, constitute the so-called group A general variables: age, sex, height, BMI. Moreover, the variables obtained from radiological analysis will form part of group B of spinal variables: sacral angle, reversion angle, lumbar spinal index, degree of lordosis, height of lordosis and wedged vertebra.

Results:

The geometric model developed from the graphical representation of spine provides the basis to characterize graphically the component of human posture that has its origin in the lumbar region tracing through the actual circumference of the spine obtained from both geometric variables already considered as well as the concepts related to the posture.

Variables have been proposed that allow presenting the problem in geometric terms. These variables include the ones used previously as well as new variables proposed in this study. The sample as well as the data considered in the study are highly reliable as it presents a percentage of individuals close to the total population, due to employing the unique and advanced facilities and a unique protocol for obtaining X-rays. Finally the use of the applied protocol that was formulated exclusively for the study guarantees the quality of the data collected.

A geometric model of graphical representation of lumbar spine has been proposed that adapts to the original contour of spine and allows working with the concept of posture¹¹. Thus, we have developed a methodology that allows establishing the treatment of the acquired data in order to ensure the validity of results, and a method developed by us has been presented for the measurement and processing of variables based on the geometric transformation proportional

to the variables used. This allows a comparison between individuals of different size and morphology. Furthermore, the variables that have significance in highlighting the problem have been proposed in geometric terms.

Mathematical model proposed in this study is based on two tests:

1. **Test of independency**, this test allowed determining the correalltion between the variables considered in the lumbar spine (Table 1). The statistic technique used for the analysis as described earlier is based on a theoretical distribution χ^2 (chi-square).

Table 1. Summary table of related variables.

		TYPE A				TYPE B					
		Age	Sex	Size	BMI	Sacral angle a ₁	Reversion angle a ₂	Lumbar Spinal Index	Degree of Lordosis	Height of lordosis	Wedge
TYPE A	Age	X				X	X	X	X	X	
	Sex		X			X	X	X	X	X	
	Size			X		X	X	X	X	X	
	BMI				X	X	X	X	X	X	
TYPE B	Sacral angle a ₁	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Reversion angle a ₂	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Lumbar Spinal Index		X	X	X	X	X	X	X	X	X
		Degree of Lordosis	X	X	X	X	X	X	X	X	X
		Height of lordosis	X	X	X	X	X	X	X	X	X
		Wedge				X	X	X	X	X	X

Contingency tables have been considered in proportion to the variables pairs indicated in Table 1, and after determining the Id identifier of the number of each of the variables, a comparison, we proceeded to perform the comparison with characteristic percentile of confidence level of 95% in the distribution table of χ^2 .

Tables 2 and 3 provide the results of test of independency and the value of independence obtained for each pair of variables.

Table 2. Results of Independency test.

		TYPE A				TYPE B				
		Sex	Size	BMI	Sacral angle a ₁	Reversion angle a ₂	Lumbar Spinal Index	Degree of Lordosis	Height of Lordosis	Wedge
TYPE A	Age			D	I	I	I	I	I	
	Sex			D	I	I	I	I	D	
	Size			I	D	I	I	I		
	BMI				I	I	I	I		
TYPE B	Sacral angle a ₁				D	D	D	I	I	
	Reversion angle a ₂					D	D	I	I	
	Lumbar Spinal Index						D	I	I	
		Degree of Lordosis						D	I	
		Height of Lordosis							I	

Table 3. Degree of independency between the variables.

		TIPO A				TIPO B				
		Sex	Size	BMI	Sacral angle a ₁	Reversion angle a ₂	Lumbar Spinal Index	Degree of Lordosis	Height of Lordosis	Wedge
TYPE A	Age		1.01	-6.96	-4.78		-0.71	-3.74		
	Sex		3.08	-6.19	-4.03	-0.34	-4.85	0.14		
	Size			-9.63	0.08	-3.20	-4.16			
	BMI				-5.11	-14.22	-6.97	-2.51		
TYPE B	Sacral angle a ₁				7.56	8.37	11.94	-1.64	-4.71	
	Reversion angle a ₂					3.98	13.40	-1.90	-4.29	
	Lumbar Spinal Index							2.49		
	Degree of Lordosis							0.98	-5.74	
	Height of Lordosis									-1.72

	Independent Variables
	Dependent Variables
	Value of Independence intermediate between -1 y 1

The results obtained provided some interesting dependence relationships that is a first step towards mathematical formulation of the concept "entirety of posture" or "global nature of posture". It could be expected that the studies among the variables that were associated with sex (sacral angle – sex, reversion angle – sex, medulla index – sex and degree of lordosis – sex) would show a dependency relationship, but the results show independence with respect to this factor.

It is important to notice that the lumbar spinal variable does not depend on sex indicating that there are no difference between men and women as could be expected if the differences in shape and size of bones near the pelvis are considered (different shape and size).

In the case of height of lordosis – sex and BMI – sex, however the factor of sex has shown a dependence in the results. In the case of height in L_4 , this dependency has been registered in 1/3 of the male and only in 2 female subjects, meanwhile in L_3 it was found in 27 out of 29 female and 2/3 of male subjects.

The wedged vertebra, which could be presumed to be dependent on the degree of lordosis, reversion angle and height of lordosis, has found to be independent in all cases.

Other pairs of variables that have shown dependency relationship have been the sacral angle – reversion angle as expected. "The changes in the value of the sacral angle influence the reversion angle. However the height of lordosis is independent of both of them."

The variables that are clearly dependent include, sacral angle – reversion angle, sacral angle – lumbar spinal index and sacral angle – degree of lordosis. As in the previous case, this means that modifications of sacral angle influence the values of the other variables.

Reversion angle – degree of lordosis, also show dependency relationship as in principle could be expected given its significance and impact on posture.

The variable BMI is dependent on the age and sex.

The degree of lordosis is greater with height of lordosis in L_3 .

However, improving compartmentalization certain variables could have provided greater reliability in analysis, such as sacral angle – height of lordosis that are independent, sacral angle – wedged vertebrae that are independent, reversion angle - age are independent, reversion angle - lumbar spinal index that are dependent, degree of lordosis - age, etc. Other variables achieved very low reliability obtaining a value of independency between -1 and 1.

2. Line of best fit test, has confirmed the initial proposed hypothesis affirming that the variables such as sacral angle, reversion angle and degree of lordosis fit to a model of Normal probability distribution (figures 2, 3 & 4). This test is very relevant as it allows characterizing a sample and later on proceed to its comparison to other samples with different characteristics.

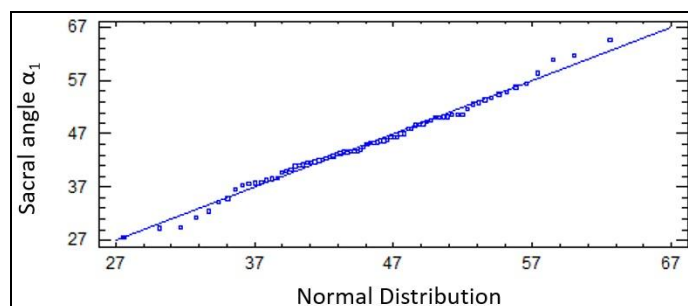


Fig. 2. Graph of the best fit line for the sacral angle α_1

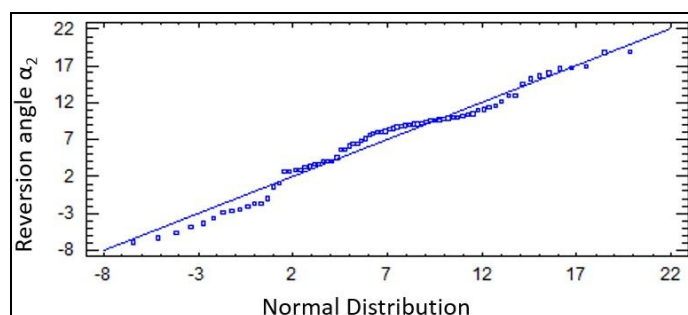


Fig. 3. Graph of the best fit line for reversion angle α_2

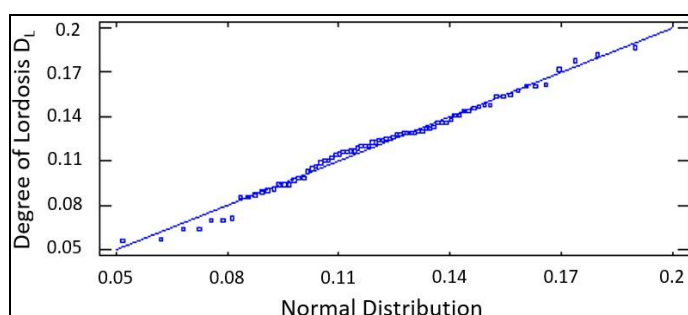


Fig. 4. Graph of the best fit line for the degree of lordosis D_L

In the histograms shown in figures 5, 6 & 7, a good fit of the data for the sacral angle α_1 , reversion angle α_2 and degree of lordosis D_L to Normal distribution can be seen by comparing the two distributions quantiles. The solid line corresponds to the normal distribution and points to the values of α_1 achieved.

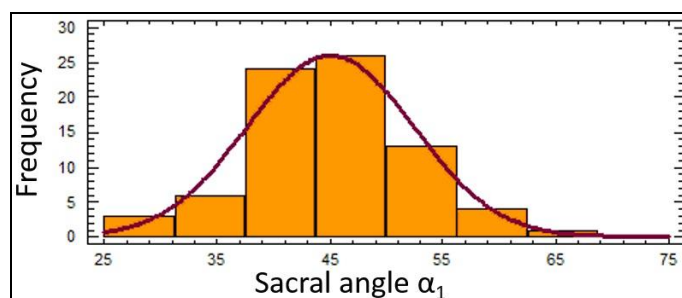


Fig. 5. Histogram of sacral angle α_1 and Normal density

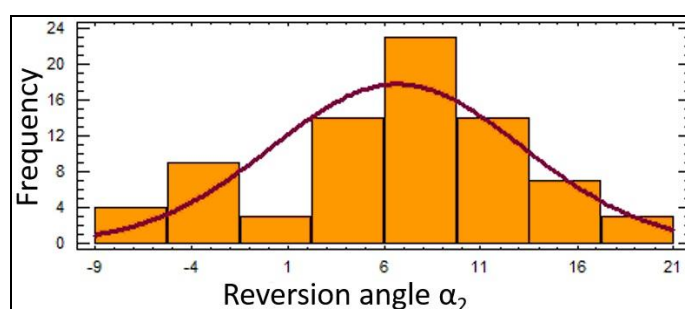


Fig. 6. Histogram of reversion angle α_2 and Normal density

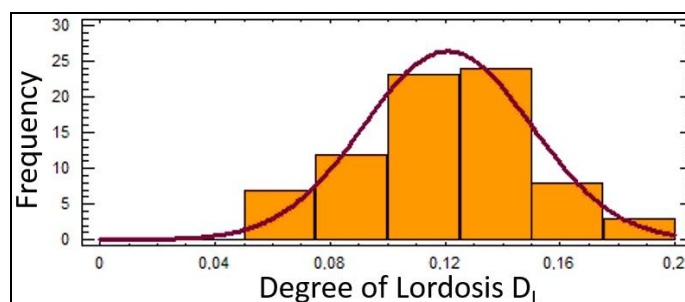


Fig. 7. Histogram of degree of lordosis D_L and Normal density

The results obtained in the proposed models are relevant for the systemization and postural modelization of the individual, once possible dependency relations are established, extending the study to other regions and acquiring fundamental concepts for the analysis of overall posture. Our geometric and mathematical models can be of interest for methodological usefulness for all professionals who focus on the study and measurement of the spine in different aspects: biomechanics, geometric, diagnosis, medical, physiotherapy, sports, etc.

Discussion:

Back pain in the lumbar region is the most frequent injury in sports^{2,6}. Presently due to early sports specialization and great development in competitive sports, problems of acute lumbar back pain are encountered in adolescents who at such a young age sometimes require a surgery, the most common being spondylolysis^{4,12,13}. Generally, the cause of these injuries is overtraining of the lumbosacral column and cartilage avulsion may occur in the vertebrae.

There are several situations involving an overload of the lumbar spine in sports like weightlifting because of fast intensive training and workout for competitions, in order to achieve maximum performance on columns. However, sometimes due to the age of the individual, the vertebral columns have not yet reached to the maximum or sufficient level of development, and are not prepared to bear this burden either^{14,15}.

In some occasions, a very painful accident can occur in the vertebral plate, which can be serious because of using weights of inappropriate loads, similarly the workouts that involve rotation or lateral inclination, which is mostly treated as a position attained in disequilibrium with poor proprioceptive control of the lumbar spine. A herniated disc often causes this acute condition³.

Therefore, the geometric and mathematical study that we have applied on the subjects who practice the sport of weightlifting will permit the evaluation and graphical characterization of lumbar spine in sagittal plane in order to define it and analyse the angles of spine. This will be done by comparing with the history of same athlete as well as with others practicing the same discipline. Furthermore, it will also enable to predict the behaviour in the individuals interested in the

practice of this sport modality, which undoubtedly will have an impact on the prevention of possible injuries of the lumbar region in the subjects¹⁶. In this way, a geometric and mathematical study of the vertebral column will allow carrying out a concrete determination of the safety limits in weightlifting by comparing the stress. These are calculated based on the biomechanical models using maximum loads and observing the specific tissues of the column involved in experimental mode.

When the calculated internal stress exceeds the capacity of the tissues, an injury can be expected to occur. Therefore, biomechanical models can be used for development or justification of risk control strategies that minimize the calculated stress, maintaining a safety zone during uplifting of the weights.

The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) establishes criteria for the safety levels in weightlifting. The equation of NIOSH employs the following biomechanics criteria; firstly it points out that the joint between L₅ and S₁ is at level where major force is implied during lifting, being the compressive force at this level and constituting the vector of critical stress, secondly the criteria points out that the compression force that establishes an increase in the risk is 350 kg.

Several studies have shown that carrying a compressive load of 350 kg on the lumbar spine starts producing microfractures in the vertebral plates at least in 25% of the weightlifting athletes^{2,6}. The mechanism of the spinal injuries under compressive loads is produced by the disorder of the vertebral plates and the underlying trabeculae in accordance with the nucleus pulposus which is pressed in upper or lower direction. It is unlikely that the magnitude of the compressive forces during a single lifting causes just one fracture in the vertebral plate and it has been reported that it is more probable that injuries of this type are more cumulative.

The developed procedure will allow its practical application to the performance of sports and in sports medicine, not only in the speciality of weightlifting but could also be extended to other related sports modalities, by designing the protocols for the correction of overall posture and establishing compensatory guidelines of action on two levels. First one of preventive character, involving the application of this protocol in a programed fashion to the training of the sport thus avoiding deviations and imbalances that can exceed the healthy and performance limits, and therefore preventing irreversible morphological disorders or characteristic injuries. Second level of action would be through sports medicine, where these methods can be applicable to the rehabilitation of top athletes which by its protocol systematization would be feasible in case of getting mathematical modeling¹⁶.

Moreover, the developed geometric and mathematical model can extend its methodology to pelvis-vertebral column as a whole in order to obtain a postural model with a higher level of comprehensiveness and totality and therefore possessing the capacity of a complete individual biomechanical analysis. This approach includes the study of the postural compensation hypothesis of spinal curves.

Having a good geometric and mathematical model of the lumbar spine, as we have developed in our work, will help improving the sports techniques, formulate behavioral guidelines about individuals' postural patterns, prevent disorders in the vertebral column, improve orthopedic and support systems to people with disabilities, and optimize ergonomics and postural simulation in the field of industrial design.

A working methodology should be developed that analyzes the presented hypothesis to establish the possible relationship between the postural attitude and practicing a particular sport. In this way, it can be found out if there exists any specific type of morphology of the spine for a sample of individuals who practice professionally selected different sports.

In case that the mentioned relation exists, a specific typology could be characterized for every sport discipline and establish countervailing guidelines for action in the training itself that would avoid deviations or imbalances that exceed the health or performance limits and therefore avoid irreversible damage or characteristic injuries.

References

1. Santiago, F. R., Álvarez, L. G., Moreno, M. T. and González, P. N. (2010). La radiografía simple en el estudio del dolor de la columna vertebral. *Radiología*, 52(2), 126-137.
2. Samuel, P. C. Lesiones de la columna lumbar en el deportista. *Revista Médica Clínica Las Condes* 2012;23(3): 275-282.
3. Peña, G., Heredia, J. R., Lloret, C., Martín, M. and Da Silva-Grigoletto, M. E. Iniciación al entrenamiento de fuerza en edades tempranas: revisión. *Revista andaluza de Medicina del Deporte*(2016);9(1)
4. Mitnitski, A. B., Yahia, L. H., Newman, N. M., Gracovetsky, S. A. and Feldman, A. G. (1998). Coordination between the lumbar spine lordosis and trunk angle during weight lifting. *Clinical Biomechanics*, 13(2), 121-127.
5. Anselmi, H. (2007). Actualizaciones sobre entrenamiento de la potencia. Anselmi, Buenos Aires, 2007.
6. Rochcongar, P. (2014). Lesiones crónicas del aparato locomotor en el deportista. *EMC-Aparato Locomotor*, 47(2), 1-10.
7. Álvarez, G. R., Grigoletto, M. D. S. and Manso, J. G. La Halterofilia aplicada al deporte: Su enseñanza, uso y aplicación. Wanceulen SL2015.
8. Angulo Escobar, P. V., Cáceres Flores, B. I. and Cuenca Villa, M. A. (2015). Eficacia de la intervención educativa sobre ergonomía física, aplicada en el despegue de la modalidad de arranque en los niños, niñas y adolescentes que practican halterofilia en La Federación Deportiva del Azuay. Cuenca.
9. Hernández Corvo R. (2000). Halterofilia y Movimiento. 1ª ed. Madrid: B.O.C.M..

10. Gutiérrez, J. J. A., del Amo, J. L. L. and Evrard, M. M. (2014). Caracterización del tiempo de vuelo en relación con variables biomecánicas del tirón en la arrancada de halterofilia. *Apunts. Educación física y deportes*, 4(118), 68-78.
11. Pérez, F. G., and García, M. T. F. (2013). Exploración del raquis lumbar y articulaciones sacroilíacas. *FMC-Formación Médica Continuada en Atención Primaria*, 20(8), 468-472
12. Granata, K. P., Marras, W. S. and Davis, K. G. (1997). Biomechanical assessment of lifting dynamics, muscle activity and spinal loads while using three different styles of lifting belt. *Clinical Biomechanics*, 12(2), 107-115.
13. Fees, M., Decker, T., Snyder-Mackler, L. and Axe, M. J. (1998). Upper Extremity Weight-Training Modifications for the Injured Athlete A Clinical Perspective. *The American journal of sports medicine*, 26(5), 732-742.
14. Pope, M. H. and Novotny, J. E. (1993). Spinal biomechanics. *Journal of Biomechanical engineering*, 115(4B), 569-574.
15. Arabatzi, F., Kellis, E. and De Villarreal, E. S. S. (2010). Vertical jump biomechanics after plyometric, weight lifting, and combined (weight lifting+ plyometric) training. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 24(9), 2440-2448.
16. San Pedro Orozco, P. (2012). Modelo geométrico y matemático de medición de variables posturales del raquis lumbar. Aplicación a la biomecánica del deporte de élite: Halterofilia. 2012. Doctoral thesis. Universidad Alfonso X El Sabio.



Original

Artículo español

Nulo efecto bactericida de la radiación ultravioleta emitida por diodos LED.

Null bactericidal effect of ultraviolet radiation emitted by LEDs.

Francisco Alcántara Muñoz, Rafael Moreno-Rojas, Alicia Moreno Ortega, José Emilio Muñoz Cañete y Rafael Gómez Díaz

Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Córdoba. Campus Rabanales. Córdoba. España

Resumen

El objetivo de esta investigación ha sido evaluar el efecto bactericida de la luz ultravioleta emitida mediante dispositivos LEDs sobre el crecimiento en placa de Petri de microorganismos sobre los que se establecen límites legales en los alimentos.

Se ha diseñado un equipo de alimentación eléctrica con temporización precisa y cámara para evitar fugas lumínicas en el que se han conectado dos dispositivos de emisión de radiación ultravioleta mediante tecnología LEDs a diferentes longitudes de onda: mediante una matriz de LEDs (array) que emiten en torno a 350nm y mediante un único LED específico de emisión a 280nm.

Se han usado 1000 ufc de *E. Coli* y *S. aureus* sembradas sobre PCA, como prototipos de bacterias gram negativas y positivas, respectivamente, sobre las que se ha irradiado en diferentes intervalos de tiempos con luz ultravioleta, mediante ambos dispositivos, realizando toda la experiencia con ambos dispositivos por triplicado.

En las tres series de tratamientos a ambas longitudes de onda, no se han observado reducciones del crecimiento microbiano. La serie de siembras en PCA, contemplaba placas sin siembra, por las que se ha podido descartar la posibilidad de recontaminaciones posteriores.

Palabras clave

Radiación ultravioleta, bactericida, diodo.

Abstract

This research has aimed to assess the bactericidal effect of ultraviolet light emitted by LEDs on the growth on Petri dishes of microorganisms whose legal limits in foods have been established.

An electrically fed apparatus has been designed with precise timing and a camera to prevent light spillage, in which two ultraviolet radiation emission devices were connected by LED technology at different wavelengths: through an array of LEDs emitting at around 350nm, and a single specific emission LED at 280nm.

1000 cfu of *E. Coli* and *S. aureus* sown on PCA were used as prototypes of gram negative and positive bacteria, respectively, onto which ultraviolet light was radiated at different time intervals, by means of both devices, with the whole experiment being carried out in triplicate.

In none of the three series of treatments at the two wavelengths were reductions in microbial growth observed. The series of sowings on PCA were done on unseeded plates in order to be able to discard the likelihood of subsequent recontamination.

KEYWORDS

Ultraviolet Rays, Bactericidal, diode.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: rafael.moreno@uco.es (Rafael Moreno – Rojas).

Recibido el 31 de agosto de 2016; aceptado el 8 de septiembre de 2016.



Introducción:

En países desarrollados, la seguridad microbiológica es una garantía que se sobreentiende que debe tener cualquier producto alimenticio. Tradicionalmente, para garantizar un mínimo riesgo por gérmenes patógenos, se han utilizado tratamientos térmicos de diferente intensidad y duración, que amén de garantizar la reducción drástica del riesgo por gérmenes patógenos, ocasiona efectos indeseables sobre los nutrientes y en ocasiones sobre los atributos organolépticos de los alimentos tratados. Es por tanto un desafío de la industria alimentaria moderna, la búsqueda de una efectiva reducción de la carga de gérmenes en un alimento, sin modificar sustancialmente sus características nutricionales y organolépticas. Para resolverlo se han desarrollado técnicas alternativas como el uso de atmósferas modificadas, altas presiones hidrostáticas, biocidas naturales, etc.

Entre las técnicas alternativas al tratamiento térmico se encuentra el uso de radiación ultravioleta. Dicha luz que corresponde a una pequeña zona del espectro electromagnético que va desde 100 a 400 nm, dentro del cual se suele subdividir en tres subzonas UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) y UV-C (200-280 nm) ⁽¹⁾.

Cuando la luz ultravioleta incide sobre la materia puede provocar absorción, reflexión, refracción y dispersión (scattering). Además de estas formas de interacción, la longitud de onda e intensidad de la radiación son decisivas en cuanto al efecto que puedan producir sobre un compuesto químico o un ser vivo.

La radiación UV-C presenta carácter bactericida frente microorganismos como bacterias, virus, protozoos, mohos y levaduras, presentando el mayor efecto bactericida en el rango de longitudes de onda comprendidas entre 250 y 270 nm ⁽²⁾ variando el efecto dependiendo de los factores de la matriz que pueden desplazar el pico de absorción correspondiente al ADN.

La emisión de radiación a la longitud de onda de 254 nm es utilizada para la desinfección de superficies, agua y algunos alimentos líquidos ^(1, 3).

Cuando irradiamos un microorganismo con luz ultravioleta en el rango de 235 a 310 nm provocamos daños en la estructura de ADN, estos daños podrán variar su intensidad dependiendo de tres factores: tipo de pared celular, su espesor y su composición. Obviamente se pretende que el daño ocasionado sea superior a la capacidad de reparación de ADN que presenta.

La dosis necesaria para la reducción microbiana depende también de la naturaleza de ésta y se cuantifica mediante el parámetro D (mJ/cm^2), que nos informa de la sensibilidad a la radiación de cada tipo de microorganismo. Este valor D medido a 253.7 nm ⁽⁴⁾ para enterobacterias estaría entre 2 y 8, en tanto para cocos entre 1.5 y 20. En ambos casos se encuentran entre los valores más bajos, lo que presupone que son de los microorganismos más sensibles a la radiación ultravioleta ⁽⁴⁾.

La idea de utilizar radiación ultravioleta se fundamenta por la capacidad de uso de ésta tecnología a bajas temperaturas (método de desinfección no térmico), lo que presenta las siguientes ventajas frente a los tratamientos térmicos ⁽⁵⁾:

- Es una técnica limpia, con ausencia de residuos o subproductos.
- No generan olores ni sabores indeseables.
- No necesita grandes requerimientos energéticos frente a los tratamientos térmicos convencionales, pasteurización ó esterilización.
- Las pérdidas de aromas y vitaminas durante el tratamiento son muy pequeñas.
- No provoca cambios de color en el alimento.

La justificación para utilizar LED se basa en sus ventajas frente a las lámparas de emisión ultravioleta convencionales de mercurio ⁽⁶⁾:

- Menor consumo energético.
- Menor tiempo de emisión.
- Ambientalmente inocuo.
- Rango de longitudes de onda sintonizable y radiación más focalizada.
- Posibilidad de miniaturización.
- Menor efecto contaminante en su reciclado

Si bien este efecto bactericida de la radiación ultravioleta es bastante conocido, la aplicación actual en el campo agroalimentario es muy limitado, limitándose casi exclusivamente al tratamiento de aguas.

Objetivos:

El objetivo del presente estudio es comprobar el efecto bactericida que produce la aplicación de radiación ultravioleta mediante diodos LEDs a dos longitudes de onda, sobre microorganismos potencialmente patógenos, centrándonos en los más lábiles a la radiación, tanto gram positivos, como negativos.

Material y métodos:

Todo el equipamiento electrónico aplicado en este proyecto ha sido diseñado y desarrollado exprofeso para el mismo, al no existir en este momento en el mercado ningún dispositivo de estas características (figura 1).

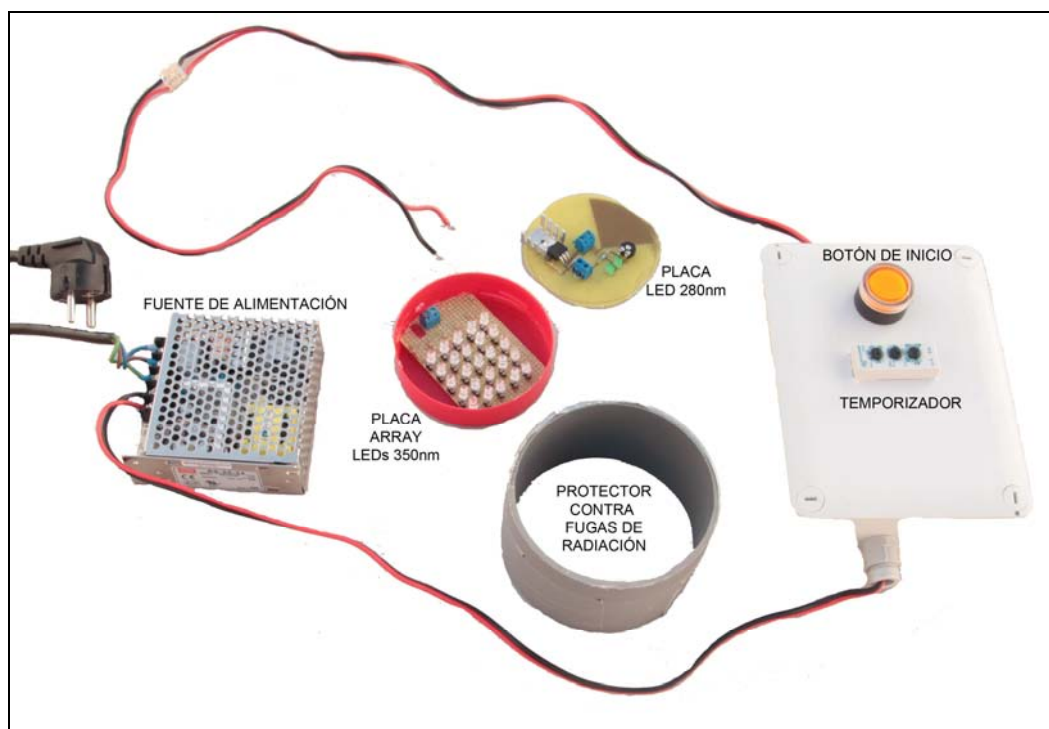


Figura 1.- Componentes del equipo de emisión de luz ultravioleta mediante leds.

Emisión ultravioleta mediante array de 350nm

Dado que no existe disponibilidad comercial en España de diodos LEDs que trabajen a las longitudes de onda que se sabe que presentan mayor rango bactericida (270-280nm), se optó por un primer montaje de un equipo de emisión con LEDs UV convencionales cuya longitud de onda se encuentra en torno a los 350nm.

Se preparó una placa de circuito impreso con una cuadrícula de 5 x 5 soportes para LEDs separados un centímetro, sobre los que se ubicaron los 25 diodos convencionales. El objetivo de esta cuadrícula era cubrir uniformemente con radiación la superficie de una placa de Petri convencional. El uso de soportes para los LEDs permite la rápida sustitución de los mismos en caso de un fallo en el funcionamiento.

Como fuente de alimentación se utilizó una fuente conmutada industrial, capaz de suministrar 24 voltios a 2 amperios (aproximadamente 50W). Se ajustó mediante resistencias y reguladores para que el voltaje de salida fuera de 3.2 V y 64 mW por LED lo que supone unos 100 mA de consumo y 16 V. Obviamente, todos los cálculos de consumo y potencia se realizaron para garantizar una intensidad lumínica suficiente a la vez que la máxima durabilidad de los LEDs. Para ello, se utilizaron resistencias variables que permiten realizar una sobrealimentación de los LEDs en caso de necesitar dotarlos de mayor intensidad, o por el contrario reducir la potencia, en caso de presentar problemas de fundidos frecuentes de los LEDs. Los consumos se calcularon y regularon por líneas de 5 para evitar que el fallo fortuito de un LED inutilice la emisión en toda la placa, limitando la posible afectación a sólo una línea de 5 LEDs.

Ya que la emisión lumínica de los LEDs está fuera del alcance del ojo humano, además de poder ser lesivo para el mismo, la constatación del funcionamiento de los LEDs se realiza por cálculo de consumo en el laboratorio electrónico y como testigo se incorpora un LED coloreado que evidencia el funcionamiento del circuito (de al menos una hilera de 5 LEDs). Además, como medida de seguridad, durante la emisión de luz ultravioleta una lámpara testigo en el disparador avisa de dicho funcionamiento.

Para la aplicación de forma exacta de los tiempos de radiación se diseñaron dos sistemas. El primero consistió en un control mediante un ordenador a través de puerto RS232 y un software específico. Este software se diseñó para poder aplicar "pulsos" lumínicos en caso de ser necesario. Dado que el desarrollo del software se realizó a bajo nivel (lenguaje de compilación) se estimó que era demasiado complejo para interactuar con el mismo a nivel de laboratorio, por lo que se desestimó su uso hasta que se desarrolle un interfaz amigable que sea fácilmente manipulable por el usuario. El segundo sistema diseñado, que fue el finalmente aplicado consistió en un temporizador seriado en tres niveles que permite un control preciso de la exposición desde décimas de segundo hasta horas.

Para evitar que salida fortuita de luz ultravioleta pudiera tener efectos lesivos sobre los ojos de los usuarios, además de montar la placa de LEDs en un recipiente de plástico que focaliza la radiación en una única dirección, se utilizó un cilindro totalmente opaco, para que al usarlo, una vez iniciada la radiación fuera imposible la salida de luz al exterior del habitáculo formado.

En una primera prueba se observa que las tiras de diodos consumen 30mA en vez de 20mA (entra dentro del rango permitido). Sin embargo, esto hace que la resistencia variable utilizada se caliente. Se rehace el sistema con una resistencia con mayor capacidad de disipar el calor producido.

Emisión ultravioleta a 280nm

Especificaciones técnicas

En nuestra investigación se han usado diodos LEDs 5050 modelo 'TH-UV280T-5050L' fabricante Zhuhai Tianhui Electronic Co., Ltd que presenta una emisión media a 280 nm, con una desviación típica de 10 nm. Este rango de emisión corresponde con la longitud de onda de desestabilización del ADN/ARN, teniendo en cuenta el efecto de desplazamiento hacia longitudes de onda superiores, debido a que las muestras para las que puede tener uso este tipo de tratamiento se encuentran en disolución acuosa y en medio salino.

El diodo presenta un ángulo de emisión de la radiación respecto a la perpendicular a su base en torno a 30 grados, lo cual se tuvo en cuenta a la hora de calcular la distancia del diodo a la placa para que la superficie irradiada fuese equivalente a toda la placa de Petri. Todas las especificaciones indicadas son para una intensidad de 20 mA.

Desarrollo:

Este tipo de diodos no se suelen comercializar en Europa y se pueden conseguir por importación directa de fabricantes en EEUU y en China, que no suelen vender al por menor.

Para el segundo montaje estaba diseñado utilizar como fuente de emisión tres diodos que presentan un máximo de emisión en torno a una longitud de onda de 280nm a una intensidad de 20 mA y una tensión directa de 6.8 V.

Estos diodos con este formato (soporte plástico), son extremadamente sensibles a la temperatura de soldadura, así como a las diferencias de tensión. Esta extrema sensibilidad hizo que se perdieran dos diodos LEDs de los adquiridos. Uno de ellos por alcanzar una elevada temperatura al soldar. El otro se perdió por suministrar una tensión de 0,4V superior al máximo permitido para el diodo en cuestión, lo cual se produjo dado que cada diodo de forma individual viene calibrado para una tensión concreta. Lamentablemente al montar el diodo en cuestión se usó la de otro de los diodos suministrados que era superior.

Estos factores limitan la utilidad de los dispositivos, a lo que se debe sumar su expectativa de vida útil, que según el fabricante, es de apenas unas decenas de horas.

Se diseñó un circuito regulador de tensión altamente fiable y se limitó a la vez la corriente suministrada con dos diodos LEDs en paralelo (consumo máximo 10mA cada uno) que limitan la corriente. El hacerlo con LEDs de emisión en el rango óptico en lugar de resistencias fue para comprobar además que el circuito está funcionando correctamente.

Por otro lado, en la placa diseñada para integrar el diodo (circular, del tamaño de una placa de Petri), se incorporó un disipador de temperatura (pista de cobre), que al estar en contacto con la superficie caliente del diodo permite que pueda disipar más calor. Para alimentar el circuito y temporizar, se utilizó el mismo circuito de potencia y temporizador que en el montaje anterior.

De nuevo se diseñó un minicubículo en el interior del cual se ubica de manera ajustada la placa de Petri, evitando cualquier fuga de luz ultravioleta, de especial interés ya que a esta longitud de onda su incidencia es aún más lesiva para el ojo humano.

Preparación microbiológica

Como soporte para la inoculación de los microorganismos se utilizó agar-agar, (Scharlau), con pectona como medio nutriente, usándose 35g en 1 litro de agua destilada. Esterilizándose posteriormente.

Como medio de dilución del microorganismo se utilizó NaCl de Panreac, al 8.5% en peso, para realizar las posteriores diluciones decimales. Se realizaron seis diluciones decimales del microorganismo, que tras las 24 horas de incubación presentaron una concentración aproximada de 10^9 uC/ml, hasta llegar en la sexta dilución a una concentración de 10^3 uC/mL, que fue la dilución que se tomó para el recuento posterior de microorganismos.

La elección de los microorganismos a usar fue, como bacteria gramnegativa: *Escherichia coli* O157:H7 ; y como grampositiva: *Staphylococcus aureus*. En ambas está documentado que su ADN es especialmente lábil frente a radiaciones UV⁽⁴⁾.

Se tomó como medio de cultivo para *E.coli* TCB (3ml), llevándolo a una estufa de incubación durante 24 horas a 37°C. Se usó una placa control sin microorganismo para detectar visualmente cualquier anomalía durante el desarrollo del crecimiento microbiano. Para el caso del *Staphylococcus aureus* el tratamiento fue análogo. En adelante a ambos microorganismos los denominaremos inóculo.

La metodología se desarrolló en la cabina de flujo laminar, previamente desinfectada. Sobre placas de Petri con PCA, usando la quinta dilución de nuestro microorganismo; con una micropipeta tomamos 0.1 ml de concentración 10^4 uC/mL lo que equivale a 1000 Uc por placa de Petri, el inóculo se extendió con una varilla de manera que quedara homogéneamente repartido.

Tratamientos de radiación ultravioleta

Tanto en el caso del equipo de emisión de array a 350nm como con el de 280nm se siguió el mismo protocolo de actuación lumínica: aplicamos la radiación emitida por los diodos sobre la placa con el inóculo, a distintos tiempos de exposición, 1, 5, 20, 40 y 70 minutos, utilizándose tres placas por cada exposición temporal.

También se utilizaron tres placas inoculadas a las que no se les aplicó la radiación, ya que las utilizamos como referencia de crecimiento microbiano en ausencia de radiación.

Por último se usaron tres placas de Petri sin inóculo y sin radiación para comprobar que ninguna contaminación fortuita pudiera desvirtuar el experimento.

Posteriormente introducimos todas las placas en una estufa a 37°C y 24 horas para su incubación y posterior recuento.

Cada experiencia completa de tiempos de radiación sobre placas por triplicado para cada microorganismo y método de radiación se repitió tres veces.

Resultados y Discusión:

Desafortunadamente, los resultados obtenidos verifican la hipótesis nula de que la irradiación con LEDs ultravioleta no atenúan el crecimiento microbiano ni para *E. coli*, ni para *S. aureus* para ninguna de las longitudes de onda utilizadas (350nm y 280nm). Es decir, no se observa ninguna reducción de *E.coli* ni de *S. aureus*, para ningún tiempo de exposición en los dos sistemas de emisión LED que se han utilizado, red de 25 diodos convencionales (350nm) y 1 diodo (280nm), frente al control inoculado no radiado.

La experiencia se ha repetido en tres ocasiones para cada sistema de los dos diferentes longitudes de onda, comprobando la integridad de los componentes electrónicos para cerciorarse de su adecuado funcionamiento.

Los controles sin inóculo se mantienen limpios en todos los casos tras la incubación, lo cual nos informan que no existe ningún tipo de contaminación en el interior de la cámara de flujo laminar.

A pesar de estos resultados negativos, consideramos oportuno realizar algunas consideraciones sobre los resultados obtenidos individualmente en cada sistema utilizado.

Ultravioleta array de 350nm

En el caso del primer montaje, red de 25 diodos (350nm) la ausencia de efecto bactericida podría estar justificada debido a que la máxima emisión se encuentra a una longitud de onda a la cual, según la bibliografía, no se producen daños en la estructura de ADN. A pesar de ello, *Yagi Noriyuki y col.* ⁽⁷⁾ encuentran efectos bactericidas, aunque refieren que la máxima actividad puede estar en un rango de entre 235nm a 310nm. *Okamoto y col.* ⁽⁸⁾ indican que a mayor tiempo de irradiación de UV-A mediante LEDs, producía un mayor efecto bactericida sobre *Helicobacter pylori*. *Nakahashi y col.* ⁽⁹⁾ comprueban sobre *Vibrio parahaemolyticus* en agua, el efecto con LEDs de UV-A.

A pesar de conocer la menor eficacia de esta zona de longitudes de onda, los resultados positivos encontrados por los autores citados y los menores costes y dificultades técnicas para desarrollar esta emisión, fundamental en su posterior implantación industrial, fueron los motivos de incluirla en el modelo experimental.

Ultravioleta a 280nm

Los resultados del segundo sistema de irradiación son aún más inesperados, ya que se trata de un diodo mucho más específico, donde el fabricante (Zhuhai Tianhui Electronic Co.,Ltd) asegura su aplicación como bactericida en tratamientos de depuración de agua, con los mismos ó menores tiempos de radiación y a una distancia de aplicación incluso mayor y con un flujo laminar de agua. Este efecto es previsible al presentar el máximo de emisión de longitud de onda en torno a 280nm, que se encuentra dentro del rango de alteración del ADN ⁽⁷⁾.

Kaur y col. ⁽¹⁰⁾ demuestran que la atenuación en *Aeromonas hydrophila* con UV-C es mayor que con fotocatalización con dióxido de titanio, aunque menos efectiva que los ultrasonidos. *Nakahashi y col.* ⁽⁹⁾ comprueban sobre *Vibrio parahaemolyticus* en agua el efecto con LEDs de UV-C, si bien el efecto se incrementa con la aplicación simultánea o secuencial de UV-A.

Los resultados negativos obtenidos, suponemos que se debe principalmente a una baja intensidad en la luz emitida, ya que la reducción microbiana por radiación no depende únicamente de la elección de la longitud de onda, sino que se debe tener en cuenta un factor que es crítico: la dosis aplicada. Esta idea de la baja intensidad de luz se puede avalar por el hecho de que en la placa, que coincidía con la totalidad de la zona radiada, no presentaba ningún halo de menor densidad microbiana, como cabría esperar. Aunque se comprobó la longitud de onda a la que emitían los dos sistemas de diodos LEDs mediante un espectrofotómetro, no pudimos establecer la intensidad de radiación emitida, que puede ser inferior a la indicada por las especificaciones del fabricante en este segundo sistema. En todas las desactivaciones microbianas es necesario aplicar una dosis D (J/m^2) superior a la umbral, por lo que posiblemente no se llegara a alcanzar en nuestra investigación dicho umbral.

Conclusiones:

La actuación mediante radiación ultravioleta de hasta 70 minutos a 350nm y 280nm resultaron ineficaces para la reducción del crecimiento microbiano de *E.coli* y *S. Aureus*. Aunque no tenemos constatación fehaciente, es posible que el factor decisivo en la falta de inactivación con el diodo de 280nm se deba a baja intensidad lumínica.

Propuestas

Es imprescindible comprobar si la intensidad de la radiación, medida como dosis D (J/m^2) es superior al umbral, antes de desarrollar este tipo de experiencias.

Sería conveniente testar inicialmente el efecto bactericida en agua de los diodos LEDs a 280nm (avalada por el fabricante) y posteriormente llevarlo a cabo sobre agar-agar.

Dada la ausencia de investigaciones del efecto de los diodos LEDs UV sobre materia orgánica, consideramos muy interesante continuar esta línea por las posibles aplicaciones que pudieran derivarse para la industria alimentaria.

Referencias

1. Guerrero-Beltrán, J. A., & Barbosa-Cánovas, G. V. Review: Advantages and limitations on processing foods by UV light. *FOOD SCI TECHNOL INT.* 2004; 10: 137–148.
2. Bintsis T, Litopoulou-Tzanetaki E, Robinson RK. Review: Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry. *J SCI FOOD AGR.* 2000; 80(6): 637-645
3. Guerrero-Beltrán, J. A., & Barbosa-Cánovas, G. V. Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice by ultraviolet light. *J FOOD PROCESS ENG.* 2005; 28, 437–452.
4. Koutchma, T. Review: Advances In Ultraviolet Light Technology for Non-thermal Processing of Liquid Food. *FOOD BIOPROCESS TECH.* 2009; 2, 138-155.
5. Tran M. T. T., Farid M: Ultraviolet treatment of orange juice. *INNOV FOOD SCI EMERG.* 2004; 495-502
6. U.S. Environmental Protection Agency. Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants; Analytical Methods for the Biological Pollutants in Wastewater and Sewage Sludge; Final Rule. U.S. Federal Register; 2007.
7. Yagi N, Mori M, Hamamoto A, Nakan M, Akutagawa M, Tachebana S, Takahashi A, Ikehara T, Kinouchi Y, Ieee: Sterilization using 365 nm UV-LED. In *29th Annual International Conference of the IEEE-Engineering-in-Medicine-and-Biology-Society, Aug 22-26; Lyon, FRANCE.* 2007.
8. Okamoto T, Nishikawa J, Yanai H, Nakamura H, Takeuchi H, Kurai S, Akada JK, Sakaida I. In vitro bactericidal effects of near-ultraviolet light from light-emitting diodes on *Helicobacter pylori*. *SCAND J GASTROENTERO.* 2013; 48(12):1484-1486.
9. Nakahashi M, Mawatari K, Hirata A, Maetani M, Shimohata T, Uebanso T, Hamada Y, Akutagawa M, Kinouchi Y, Takahashi A. Simultaneous Irradiation with Different Wavelengths of Ultraviolet Light has Synergistic Bactericidal Effect on *Vibrio parahaemolyticus*. *PHOTOCHEM PHOTOBIOLOG.* 2014; 90(6):1397-1403
10. Kaur J, Karthikeyan R, Pillai SD. Effectiveness of ultrasound, UV-C, and photocatalysis on inactivation kinetics of *Aeromonas hydrophila*. *J ENVIRON SCI HEAL A.* 2015; 50(12):1223-1229.



Original

Artículo español

Los probióticos no mejoran los beneficios de un protocolo hospitalario de tratamiento de la diarrea aguda en el lactante.

Probiotics do not improve the benefits of a hospital treatment protocol for acute diarrhea in the breastfed child.

Sergio Santana Porbén¹, Eduardo Piñeiro Fernández², Rafael Jiménez García³, Stefanie Marcela Ruiz Fallas⁴

¹Médico, Especialista de Segundo Grado en Bioquímica Clínica. Máster en Nutrición en Salud Pública. Profesor Asistente. Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez". La Habana. Cuba.

²Médico, Especialista de Primer Grado en Pediatría. Máster en Atención integral al niño. Profesor Auxiliar. Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez". La Habana. Cuba.

³Médico, Especialista de Segundo Grado en Pediatría. Profesor Auxiliar. Investigador Auxiliar. Máster en Atención integral al niño. Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez". La Habana. Cuba.

⁴Médico, Especialista de Primer Grado en Pediatría. Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez". La Habana. Cuba.

Resumen

Justificación: Los probióticos han sido usados en el tratamiento de las diarreas agudas que ocurren en las edades pediátricas con resultados mixtos.

Objetivo: Evaluar el impacto de un probiótico (CFU per cápsula: *Lactobacillus rhamnosus* G: 2×10^9 , *Lactobacillus casei*: 1×10^9 , *Bifidobacterium brevis*: 2×10^9) sobre las características y la duración de las diarreas agudas en lactantes.

Locación del estudio: Servicio de Enfermedades Digestivas y Nutrición, Hospital Pediátrico "Juan Manuel Márquez" (Marianao, La Habana, Cuba).

Diseño del estudio: Ensayo clínico *quasi*-experimental, abierto. Treinta niños con edades < 2 años atendidos consecutivamente en el servicio debido a diarreas agudas (*Al ingreso*: 5.7 ± 3.7 deposiciones.día⁻¹) recibieron 1 cápsula del probiótico durante 10 días. El impacto del probiótico se midió de los cambios en el peso corporal, las variables hematológicas, y las características y días de duración de las diarreas. La efectividad del probiótico empleado se comparó con la propia de las actuaciones prescritas en los protocolos institucionales.

Resultados: El tratamiento con probióticos no fue superior al protocolo asistencial en la modificación del hábito defecatorio del lactante: Reducción del número de deposiciones diarias: *No Tratados*: 100.0% vs. *Tratados*: 90.0% ($p > 0.05$); Cambio en las características de las deposiciones: *No Tratados*: 93.3% vs. *Tratados*: 96.1% ($p > 0.05$). El uso de los probióticos produjo un aumento de los valores basales de la Hemoglobina ($\Delta = -0.44$; $p < 0.05$) y el hierro sérico ($\Delta = -2.25$; $p < 0.05$). El tratamiento con probióticos también se asoció a disminución moderada ($p > 0.05$) de los indicadores de respuesta inflamatoria sistémica.

Conclusiones: La incorporación de probióticos en el protocolo asistencial de tratamiento de la diarrea aguda en el lactante no produce cambios apreciables en el hábito defecatorio del lactante, pero puede reducir el tono inflamatorio sistémico, lo que resultaría, a su vez, en una mejor utilización del hierro corporal.

Palabras clave

Probióticos; Lactante; Diarrea aguda; Inflamación; Hierro.

Abstract

Rationale: Probiotics have been used in the treatment of acute diarrhea occurring in pediatric ages with mixed results.

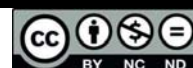
Objective: To assess the impact of a probiotic (CFU per capsule: *Lactobacillus rhamnosus* G: 2×10^9 , *Lactobacillus casei*: 1×10^9 , *Bifidobacterium brevis*: 2×10^9) upon the features and duration of acute diarrhea in breastfed children.

Study location: Digestive Diseases and Nutrition Service, "Juan Manuel Márquez" Pediatric Teaching Hospital (Marianao, Havana City, Cuba).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ssergito@infomed.sld.cu (Sergio Santana Porbén).

Recibido el 2 de septiembre de 2016; aceptado el 9 de septiembre de 2016.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

Study design: Open, quasi-experimental trial. Thirty children with ages < 2 years consecutively assisted in the service due to acute diarrhea (*On admission*: 5.7 ± 3.7 stools.day⁻¹) received 1 probiotic capsule daily during 10 days. Impact of probiotic was measured from changes in body weight, hematological variables, and the features and days of duration of diarrheas. Effectiveness of administered probiotic was compared with that of the actions prescribed in institutional protocols.

Results: Probiotics were not better than current therapeutical protocol for improving stool pattern of the breastfed child: Reduction in the number of daily stools: *Non-Treated*: 100.0% vs. *Treated*: 90.0% ($p > 0.05$); Improvement of the features of stools: *Non-Treated*: 93.3% vs. *Treated*: 96.1% ($p > 0.05$). Use of probiotics produced an increase of Hemoglobin ($\Delta = -0.44$; $p < 0.05$) and serum Iron ($\Delta = -2.25$; $p < 0.05$) basal values. Treatment with probiotics was also associated with mildly decreased ($p > 0.05$) values of indicators of systemic inflammatory response.

Conclusions: Inclusion of probiotics within an institutional protocol for treatment of acute diarrhea does not significantly change the stool pattern of the breastfed child, but might reduce the systemic inflammatory tone which, in turn, would result in a better use of body iron.

KEYWORDS

Probiotics; Breastfed child; Acute diarrhea; Inflammation; Iron.

Introducción:

El uso de probióticos en el tratamiento de las diarreas agudas en la infancia temprana ha sido objeto de debate en los últimos años como alternativa a la antibioticoterapia.¹⁻⁴ Los antibióticos empleados en el tratamiento de las diarreas podrían alterar el diseño, la composición bacteriana, y las funciones de la biota intestinal, y a la vez, incrementar la susceptibilidad del niño a eventos mórbidos posteriores como las atopias y la Obesidad.⁵⁻⁶

Se ha propuesto que las bacterias con propiedades probióticas pueden antagonizar localmente los efectos perniciosos de aquellas patógenas, y remodelar la respuesta inmune del huésped ante la colonización externa.⁷⁻⁸ El uso de probióticos podría resultar entonces en alivio sintomático y una menor duración del cuadro diarreico.⁹⁻¹⁰ Sin embargo, los resultados anotados en la literatura internacional no son concluyentes.¹¹⁻¹²

La ocurrencia de diarrea en un lactante constituye motivo de ingreso en la institución de desempeño de los autores. Los protocolos institucionales prescritos corrientemente establecen el uso de antibióticos si las diarreas se prolongan más allá de lo clínicamente razonable.¹³ Se hipotetizó que el uso de un probiótico de composición bacteriana especificada pudiera ser más efectivo que la ruta corriente de tratamiento institucional. Con ese objetivo se condujo el presente ensayo clínico *quasi-experimental*. La ocasión fue también propicia para documentar exhaustivamente, por primera vez en la institución, la efectividad de los probióticos como agentes terapéuticos.

Material y método:

Locación del estudio: Servicio de Enfermedades Digestivas y Nutrición, Hospital Pediátrico Docente “Juan Manuel Márquez”, La Habana (Cuba).

Serie de estudio: Fueron elegibles para participar en este ensayo los niños menores de 2 años de edad que se presentaron con diarreas agudas en el servicio entre los meses de Enero del 2011 y Enero del 2013 (ambos inclusive).

Por diarrea se entendió toda modificación del hábito defecatorio del niño (frecuencia/calidad/cantidad/presencia de sangre) que obligó a internación y tratamiento hospitalarios para la contención del síntoma; y en ausencia de causas orgánicas de las mismas. Por consiguiente, se excluyeron del ensayo los niños menores de 1 mes de nacido, los niños mayores de 2 años de edad, los niños con 30 (o menos) días de un ingreso hospitalario anterior (sea éste o no en la institución de pertenencia de los autores); y presencia de causas orgánicas de las diarreas, como el acortamiento del intestino o la disfunción intestinal crónica.

En el momento de la inclusión del niño en el presente ensayo se obtuvieron los datos demográficos (sexo/edad) y la historia perinatal; se confeccionó la correspondiente historia clínica (con énfasis en las características de las diarreas); se construyó el perfil antropométrico; y se completaron los estudios hemoquímicos. Las mediciones antropométricas se realizaron según los procedimientos prescritos para los niños de esta edad.¹⁴

Diseño del estudio: La efectividad de una combinación de Lactobacilos + Bifidobacterias en el tratamiento de las diarreas agudas en niños menores de 2 años respecto del protocolo asistencial de aplicación corriente se evaluó mediante un ensayo *quasi-experimental*.¹⁵ Los niños fueron incluidos en el ensayo bajo el principio de “Intención de tratar”.¹⁶ El ensayo *quasi-experimental* se condujo secuencialmente, tal y como muestra la Figura 1.

Los niños que finalmente fueron incluidos en la presente serie de estudio se asignaron a cualquiera de 2 tratamientos posibles: *Grupo A*: Control: Tratados según el protocolo corriente vs. *Grupo B*: Intervención: Tratados según el protocolo corriente + Combinación descrita de Lactobacilos + Bifidobacterias.

El impacto de la incorporación de una combinación de probióticos dentro del protocolo asistencial de tratamiento de la diarrea aguda se evaluó de la modificación de las características del hábito defecatorio, y el cambio en los indicadores antropométricos y bioquímicos del estado nutricional.

Descripción de la combinación de probióticos empleada en la intervención: La intervención previó la administración diaria de una cápsula contentiva de 3 cepas microbianas durante 10 días. Cada cápsula contenía: *Lactobacillus rhamnosus* G: 2×10^9 CFU; *Lactobacillus casei*: 1×10^9 CFU; y *Bifidobacterium brevis*: 2×10^9 CFU.

En caso de que se decidiera el egreso del niño, se le suministraron al cuidador las cápsulas de probióticos requeridas para la continuidad | culminación del tratamiento en el domicilio.

El cumplimiento del tratamiento con probióticos se evaluó mediante un instrumento descrito previamente.¹⁷

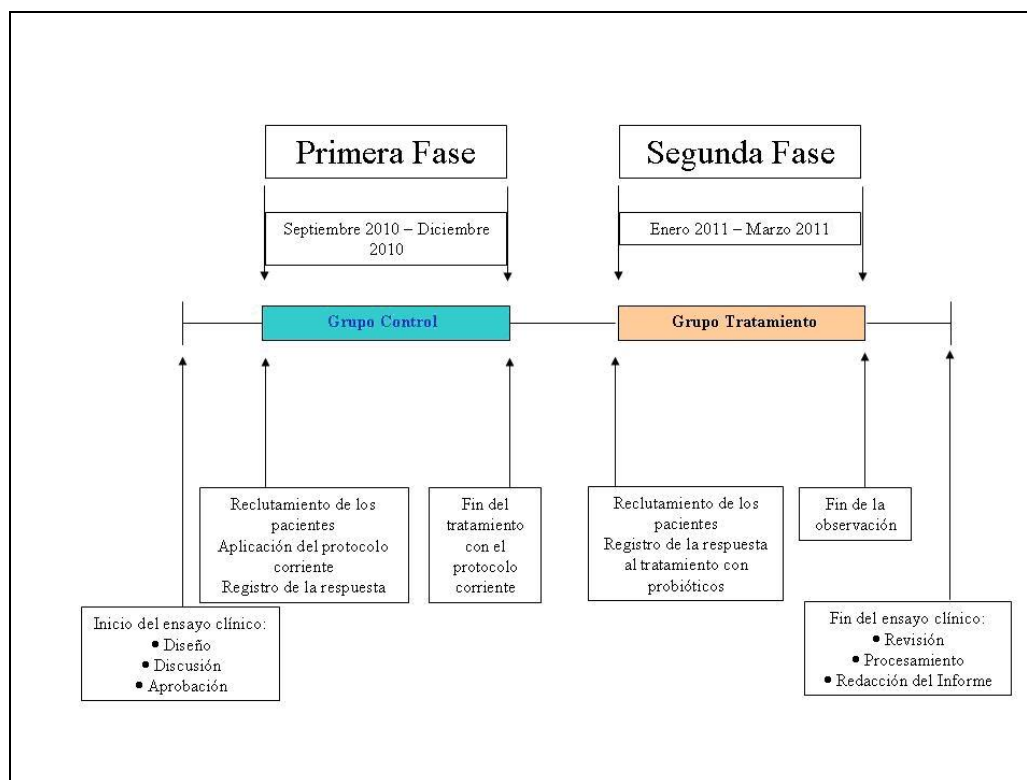


Figura 1. Diseño general del ensayo *quasi*-experimental descrito en este artículo.

Otras intervenciones: Los enfermos fueron alimentados según las recomendaciones avanzadas para la edad y la situación clínica corriente, y de acuerdo con los juicios de los expertos del Servicio hospitalario de Nutrición.¹⁸ Los ingresos diarios de energía dietética se cuantificaron mediante técnicas apropiadas de encuestas dietéticas.¹⁹⁻²⁰

Los enfermos fueron citados transcurridos 7 y 15 días después del egreso hospitalario para la evaluación del cumplimiento de los programas terapéuticos implementados, y el registro del estado de las variables seleccionadas para medir el impacto del tratamiento.

Posibles efectos adversos y su tratamiento: Se ha demostrado que la administración de probióticos como parte del tratamiento de las diarreas de los niños con edades entre 1 – 24 meses es segura.²¹ Muchos de los niños atendidos en el Servicio hospitalario de Gastroenterología han sido tratados en el pasado con diversas cepas de probióticos. No obstante, el tratamiento con probióticos se discontinuó ante la más leve sospecha de la ocurrencia de reacciones adversas.

Consideraciones bioéticas: Antes de la inclusión del niño en el ensayo, los investigadores se entrevistaron con los padres para exponerles los objetivos de la investigación, el diseño experimental a seguir, y los beneficios esperados de los probióticos empleados; así como las posibles reacciones adversas, y las acciones a conducir ante las mismas.

En todo momento se respetó la autonomía del padre en la toma de decisión sobre la inclusión del niño en el ensayo, sin menoscabo de la asistencia médica recibida durante la hospitalización. El padre que consintió en que el niño fuera sujeto del ensayo corriente firmó la correspondiente acta de consentimiento informado.

Procesamiento de datos y análisis estadístico-matemático de los resultados: Todos los datos recuperados de los niños que fueron incluidos en este ensayo se anotaron en las correspondientes historias clínicas, y vaciados en una base de datos creada *ad hoc* sobre Access versión 7.0 para Office de Windows (Microsoft, EEUU).

Los datos recuperados se redujeron hasta estadígrafos de locación (media), dispersión (desviación estándar), y agregación (frecuencias absolutas | relativas, porcentajes), según el tipo de la variable.

La existencia de diferencias entre los valores basales de las características propias de los subgrupos de los niños tratados se evaluó indistintamente mediante el test “t” de Student para poblaciones independientes o el test de homogeneidad basado en la distribución ji-cuadrado, según fuera el tipo de la variable.²²

Los cambios ocurridos dentro-de-cada-grupo en las categorías diagnósticas construidas según el valor de la variable de respuesta se evaluaron mediante el test de McNemar para muestras apareadas.²²

Para cada variable de respuesta del tratamiento se calculó el cambio Δ en el valor basal como: $\Delta = (\text{Valor final} - \text{Valor basal})$. Valores positivos de Δ apuntarían hacia la efectividad de la terapia administrada. La magnitud del cambio ocurrido en los valores basales de la variable de respuesta del ensayo en el subgrupo correspondiente se determinó mediante el test “t” de Student para muestras apareadas.²²

Se empleó el paquete SPSS (SPSS Inc., New York) de gestión estadística (versión 13.0) para el análisis estadístico-matemático de los resultados. En cualquier instancia se fijó un nivel del 5% para denotar el hallazgo pertinente como significativo.²²

Resultados:

Durante la ventana de observación del estudio, 520 niños se atendieron por diarreas en el servicio de pertenencia de los autores. De ellos, 60 (11.5% de los casos atendidos) fueron incluidos finalmente en este ensayo.

La Tabla 1 muestra las características demográficas, antropométricas y bioquímicas de los niños estudiados. Predominaron los varones al constituir el 56.7% de la serie de estudio. La edad promedio de los niños estudiados fue de 5.3 ± 2.9 meses.

Tabla 1-1. Características demográficas, antropométricas, y bioquímicas de los niños estudiados a la inclusión en el ensayo. De acuerdo con el tipo de la variable se exponen la media \pm desviación estándar de la característica correspondiente, o el porcentaje de los pacientes incluidos en el estrato de la variable.

Característica	Grupo A Protocolo asistencial	Grupo B Protocolo asistencial + Probióticos	Todos
Tamaño	30	30	60
Sexo, %	Niños: 53.3 Niñas: 46.7	Niños: 60.0 Niñas: 40.0	56.7 43.3
Edad, meses, media \pm desviación estándar	4.8 ± 3.1	5.8 ± 2.6	5.3 ± 2.9
Ingresos anteriores, %	30.0	33.3	31.7
Días de estadía hospitalaria, media \pm desviación estándar	4.5 ± 2.9	6.3 ± 4.1	5.4 ± 3.6
Diarreas al ingreso, número, media \pm desviación estándar	4.4 ± 2.9	7.0 ± 4.0	5.7 ± 3.7
Diarreas al ingreso, número.día ⁻¹ · Entre 1 – 2 · + 2	30.0 70.0	13.3 86.7	21.7 78.3
Talla al ingreso, centímetros, media \pm desviación estándar	63.4 ± 5.9	64.9 ± 6.6	64.1 ± 6.3
Peso al ingreso, gramos, media \pm desviación estándar	$6,839.1 \pm 1,707.1$	$7,397.5 \pm 1,552.8$	$7,118.3 \pm 1,642.2$
Circunferencia cefálica al ingreso, centímetros, media \pm desviación estándar	41.7 ± 3.1	43.0 ± 2.6	42.3 ± 2.9
Circunferencia media braquial al ingreso, centímetros, media \pm desviación estándar	13.7 ± 1.6	15.1 ± 5.6	14.4 ± 4.2
Talla < p10 para la Edad en el ingreso, %	3.3	6.7	5.0
Peso < p10 para la Edad en el ingreso, %	3.3	13.3	8.3

Tamaño de la serie de estudio: 60.
 Fuente: Registros del estudio.
 Fecha de cierre de los registros: Enero del 2014.

La estadía hospitalaria promedio fue de 5.4 ± 3.6 días. La tercera parte de los niños acumulaba ingresos anteriores en la institución, o en otros centros del sistema nacional de salud. No se encontraron diferencias en la estadía hospitalaria respecto de los subgrupos de tratamiento: *Protocolo asistencial*: 4.5 ± 2.9 días vs. *Protocolo asistencial + Probióticos*: 6.3 ± 4.1 días ($\Delta = -1.8$ días; $p > 0.05$; test “t” de Student para comparaciones independientes).

Tabla 1-2. Características demográficas, antropométricas, y bioquímicas de los niños estudiados a la inclusión en el ensayo. De acuerdo con el tipo de la variable se exponen la media \pm desviación estándar de la característica correspondiente, o el porcentaje de los pacientes incluidos en el estrato de la variable (Continuación).

Característica	Grupo A Protocolo asistencial	Grupo B Protocolo asistencial + Probióticos	Todos
Tamaño	30	30	60
Hemoglobina al ingreso, g.L ⁻¹ , media \pm desviación estándar	100.0 ± 10.0	105.0 ± 12.0	102.7 ± 11.1
Hemoglobina al ingreso < 105 g.L ⁻¹ , %	66.7	43.3	55.0
Hematocrito al ingreso, fracción.volumen ⁻¹ , media \pm desviación estándar	31.2 ± 4.3	31.9 ± 4.2	31.1 ± 4.3
Hematocrito al ingreso < 35 fracción.volumen ⁻¹ , %	76.7	86.7	81.7
Hierro sérico, mmol.L ⁻¹ , media \pm desviación estándar	8.3 ± 2.7	7.3 ± 5.8	7.8 ± 4.5
Hierro sérico < 10.5 mmol.L ⁻¹ , %	73.3	83.3	78.3
Eritrosedimentación, mm.hora ⁻¹ , media \pm desviación estándar	20.9 ± 14.9	20.2 ± 12.7	20.5 ± 13.7
Eritrosedimentación > 20 mm.hora ⁻¹ , %	43.3	46.7	44.5
PCR, ng.mL ⁻¹ , media \pm desviación estándar	15.9 ± 17.1	20.0 ± 25.5	17.9 ± 21.6
PCR > 5 ng.mL ⁻¹ , %	66.7	60.0	63.3
CTL, células.10 ⁶ , media \pm desviación estándar	$5,386.0 \pm 1,411.0$	$4,996.7 \pm 1,534.8$	$5,191.3 \pm 1,474.8$
Proteínas totales, g.L ⁻¹ , media \pm desviación estándar	62.1 ± 5.4	63.5 ± 4.3	62.8 ± 4.9
Albumina, g.L ⁻¹ , media \pm desviación estándar	41.1 ± 2.6	45.8 ± 4.1	43.5 ± 4.1
Transferrina, g.L ⁻¹ , media \pm desviación estándar	3.1 ± 0.7	2.6 ± 1.7	2.9 ± 1.3

Tamaño de la serie de estudio: 60.
 Fuente: Registros del estudio.
 Fecha de cierre de los registros: Enero del 2014.

En el momento del ingreso hospitalario, se registraron 5.7 ± 3.7 deposiciones diarias como promedio. El 78.3% de los niños tratados se presentó con 3 (o más) deposiciones diarias. Las diferencias observadas de subgrupo-a-subgrupo en el número de deposiciones diarias no alcanzaron fuerza estadística: *Protocolo asistencial*: 4.4 ± 2.9 deposiciones.día⁻¹ vs. *Protocolo asistencial + Probióticos*: 7.0 ± 4.0 días ($\Delta = -2.6$ deposiciones.día⁻¹; $p > 0.05$; test “t” de Student para comparaciones independientes).

El *status* de las mediciones antropométricas del niño al ingreso fue como sigue: *Longitud supina*: 64.1 ± 6.3 centímetros; *Peso corporal*: 7,118.3 ± 1,642.2 gramos; *Circunferencia cefálica*: 42.3 ± 2.9 centímetros; y *Circunferencia media del brazo*: 14.4 ± 4.2 centímetros; respectivamente. No se comprobaron diferencias entre los subgrupos de niños tratados respecto de los valores promedio de las mediciones antropométricas. Solo el 5.0% de los niños estudiados, y un 8.3%, se presentaron al ingreso hospitalario con valores de la longitud supina y el peso corporal menores del percentil 10 de las Tablas cubanas para el sexo y la edad, respectivamente.

El *status* de las variables hematológicas al ingreso del niño fue como sigue: *Hemoglobina*: 102.7 ± 11.1 g.L⁻¹; *Hematocrito*: 31.1 ± 4.3 fracción.volumen⁻¹; y *Hierro sérico*: 7.8 ± 4.5 μmol.L⁻¹; respectivamente. No se comprobaron diferencias entre los subgrupos de niños tratados respecto de los valores promedio de las variables hematológicas obtenidas.

La frecuencia de valores disminuidos de las variables hematológicas fue como sigue: *Hemoglobina < 105 g.L⁻¹*: 55.0%; *Hematocrito < 35 fracción.volumen⁻¹*: 81.7%; y *Hierro sérico < 10.5 μmol.L⁻¹*: 78.3%; respectivamente. La frecuencia de valores disminuidos de estas variables fue homogénea de subgrupo-a-subgrupo.

Los indicadores de respuesta inflamatoria se comportaron al ingreso como sigue: *Eritrosedimentación*: 20.5 ± 13.7 mm.hora⁻¹ (*Valores > 20.0 mm.hora⁻¹*: 44.5%); y *Proteína C reactiva*: 17.9 ± 21.6 ng.mL⁻¹ (*Valores > 5.0 ng.mL⁻¹*: 63.3%); respectivamente. Los subgrupos de tratamiento se comportaron homogénea-mente respecto de los indicadores de respuesta inflamatoria.

Se comprobó constancia de los indicadores bioquímicos del estado nutricional en los niños estudiados al ingreso. Los valores promedio de tales indicadores en el momento de la admisión en el hospital fue como sigue: *CTL*: 5,191.3 ± 1,474.8 células x 10⁻³ L; *Proteínas totales*: 62.8 ± 4.9 g.L⁻¹; *Albumina sérica*: 43.5 ± 4.1 g.L⁻¹; y *Transferrina sérica*: 2.9 ± 1.3 g.L⁻¹; respectivamente.

Los ingresos promedio de energía y nitrógeno dietéticos superaron el 95% de las metas terapéuticas establecidas (datos no mostrados) según los protocolos de actuación definidos en el Servicio.²³

La Tabla 2 resume los medicamentos administrados durante la hospitalización a los niños estudiados. Tales tratamientos están contemplados en los protocolos de actuación asistencial para la contención del cuadro diarreico, la corrección de los desequilibrios hidro-electrolíticos, la prevención de la aparición de carencias vitamínicas, y la promoción de la restauración de la mucosa del intestino delgado. Los subgrupos de niños solo difirieron entre sí respecto del uso de los probióticos, en virtud del diseño experimental del estudio.

Tabla 2. Tratamientos administrados durante la hospitalización del niño atendido. En cada instancia se muestran la mediana y [encerrados entre corchetes] el rango de niños tratados.

Característica	Grupo A	Grupo B
	Protocolo asistencial	Protocolo asistencial + Probióticos
Tamaño	30	30
Sales de rehidratación, onzas/diarrea	2 [1 – 5]	3 [2 – 3]
Sales de rehidratación, días de tratamiento	3 [1 – 11]	2 [1 – 5]
Vitamina C, gotas.día ⁻¹	10 [5 – 20]	10 [10 – 20]
Vitamina C, días de tratamiento	20	20
Multivit, gotas.día ⁻¹	10 [5 – 20]	10 [10 – 20]
Multivit, días de tratamiento	20	20
Ácido fólico, mg.día ⁻¹	2.5	2.5
Ácido fólico, días de tratamiento	20	20
Sulfato de zinc, mL.día ⁻¹	5 [5 – 10]	5 [5 – 10]
Sulfato de zinc, días de tratamiento	20	20
Otras vitaminas: B6 + B1		
Niños tratados	1	---
Dosis de tratamiento	½ tableta.día ⁻¹ + 1 ampula.día ⁻¹	---
Días de tratamiento	8	---
Otros tratamientos:		
· Antipiréticos: Duralgina		
Niños tratados, %	40.0	56.7
Días de tratamiento	1.5 [1 – 4]	2 [1 – 3]
· Antibióticos		
Niños tratados, %	10.0	23.3
Días de tratamiento	5	10 [5 – 10]
· Probióticos		
Niños tratados, %	0.0	100.0
Dosis de tratamiento	---	1 cápsula.día ⁻¹
Días de tratamiento	---	10

Leyenda: Multivit: Preparación multivitamínica. Presentación: Tabletas: Composición nutricional: *Tiamina*: B₁: 2.5 mg; *Riboflavina*: B₂: 1.6 mg; *Nicotinamida*: 20 mg; *Ácido fólico*: 250 mg; *Ciano-cobalamina*: 6 mg; *Piridoxina*: B₆: 2 mg; *Vitamina A*: 2,500 UI.

Fuente: Formulario Nacional de Medicamentos. Centro para el Desarrollo de la Farmacoepidemiología. MINSAP Ministerio de Salud Pública. Editorial Ciencias Médicas. La Habana: 2003

Tamaño de la serie: 60.

Fuente: Registros del estudio.

Fecha de cierre de los registros: Enero del 2014.

La Tabla 3 muestra los cambios ocurridos en los indicadores seleccionados del impacto del tratamiento administrado en cada rama del ensayo. Ambos tratamientos fueron igualmente efectivos en la reducción del número basal, y la mejoría de la consistencia, de las deposiciones observadas en el lactante. No se reportaron reacciones adversas durante el uso de los probióticos en este ensayo.

Los tratamientos administrados resultaron en incrementos significativos de los valores basales de la Talla y el Peso del lactante. La administración del protocolo asistencial se asoció con los mayores cambios en los valores basales de la Talla y el Peso. El protocolo asistencial produjo, además, un aumento detectable de la circunferencia del brazo. Ello, sin embargo, no pudo observarse con el uso de los probióticos.

Los tratamientos administrados produjeron la reducción de la respuesta inflamatoria sistémica, estimada ésta de la Eritrosedimentación y la PCR. Los cambios observados fueron similares de subgrupo-a-subgrupo, pero se debe destacar que el uso de los probióticos trajo consigo una reducción numéricamente mayor de los valores basales de la Eritrosedimentación y la PCR. La incorporación de los probióticos dentro del protocolo asistencial trajo como beneficios adicionales el aumento de las cifras basales de la hemoglobina, el hematocrito, y el hierro sérico.

Discusión:

Este ensayo ha examinado el impacto que la incorporación de una combinación de probióticos dentro de un protocolo hospitalario de actuación tiene sobre el tratamiento de la diarrea aguda en lactantes. El uso de probióticos ha sido promovido para el tratamiento de la diarrea aguda en los niños de corta edad (los lactantes incluidos). Los probióticos pueden reducir la frecuencia y el volumen de las deposiciones, y acortar la duración del episodio diarreico.^{2,4,9-10} Tales efectos se observaron en las características del hábito defecatorio de los niños tratados con probióticos en el ensayo descrito en este artículo, pero iguales resultados también fueron constatados en los niños asistidos con el protocolo de actuación seguido convencionalmente en la institución de pertenencia de los autores.

Por otro lado, el uso de los probióticos resultó en un aumento significativo de los valores basales de la Hemoglobina y el hierro sérico. El uso de los probióticos también causó una disminución de los valores basales de los indicadores de respuesta inflamatoria sistémica, si bien este efecto fue solo moderado por cuanto las diferencias observadas de subgrupo-a-subgrupo fueron numéricas, y no alcanzaron significación estadística.

Tabla 3. Cambios ocurridos en los indicadores seleccionados del impacto del tratamiento		
Característica	Grupo A	Grupo B
	Protocolo asistencial	Protocolo asistencial + Probióticos
Tamaño	30	30
Cambio en la Talla	1.14 ± 0.98 *	0.51 ± 0.60 * Δ = +0.63 †
Cambio en el Peso	475.27 ± 489.56 *	392.17 ± 432.54 * Δ = +83.1
Cambio en la Circunferencia cefálica	0.65 ± 0.79 *	0.20 ± 0.45 * Δ = +0.45 †
Cambio en la Circunferencia del brazo	0.38 ± 0.53 *	0.10 ± 0.48 Δ = +0.28
Cambio en la Talla para la Edad, %	13.3	10.0 Δ = +3.3
Cambio en el Peso para la Edad, %	23.3	26.7 Δ = -3.4
Cambio en la Hemoglobina	-0.06 ± 0.60	0.38 ± 0.71 * Δ = -0.44 †
Cambio en el Hematocrito	0.00 ± 0.03	0.01 ± 0.02 * Δ = -0.01
Cambio en la Eritrosedimentación	-8.80 ± 12.90 *	-10.63 ± 12.04 * Δ = +1.83
Cambio en la PCR	-10.48 ± 15.78 *	-13.93 ± 24.54 * Δ = +3.45
Cambio en el Hierro sérico	0.08 ± 2.22	2.33 ± 2.62 * Δ = -2.25 †
Cambio en la transferrina sérica	0.04 ± 0.24	0.26 ± 1.21 Δ = -0.22
Cambio en el CTL	450.7 ± 1,230.4	616.67 ± 1,337.54 Δ = -165.97
Cambio en las proteínas séricas totales	-0.28 ± 2.46	0.52 ± 2.80 Δ = -0.80
Cambio en la albúmina sérica	-0.23 ± 1.93	-2.01 ± 8.12 Δ = +1.78
Cambio en la glicemia sérica	-0.18 ± 1.01	-0.15 ± 1.30 Δ = -0.03
Cambio en el número de deposiciones diarias, %	100.0 *	90.0 * Δ = -20.0
Cambio en las características de las deposiciones, %	93.3 *	96.1 * Δ = 2.8

Tamaño de la serie de estudio: 60.

Fuente: Registros del estudio.

Fecha de cierre de los registros: Enero del 2014.

* p < 0.05: Cambio observado en los valores basales del indicador a la conclusión del tratamiento administrado en cada rama.

† p < 0.05: Diferencias entre los cambios observados en el indicador de subgrupo-a-subgrupo.

El impacto de los probióticos administrados sobre el metabolismo del hierro pudiera ser la expresión de la influencia a distancia de señales humorales emitidas por la bacteria sobre las células y tejidos involucrados en la absorción, la distribución y la utilización del hierro de origen dietético.²⁴⁻²⁶ Tales señales (denominadas como bacteriocinas) pudieran incrementar las cantidades absorbidas del hierro ingerido con los alimentos, y con ello, las que se colocan a disposición de la médula ósea para la síntesis de hemoglobina.²⁷⁻²⁸ En este aspecto, se debe destacar que el incremento en los valores basales de la transferrina sérica fue (numéricamente) mayor en los niños tratados con probióticos, lo que apunta hacia una mayor cantidad del mineral circulante en el torrente sanguíneo.

Pero también la actuación de los probióticos sobre el metabolismo del hierro podría deberse a la atenuación de la respuesta inflamatoria sistémica, como podría inferirse de las cifras (al menos numéricamente) disminuidas de la eritrosedimentación y la PCR. Los estados pro-inflamatorios pueden alterar la homeostasis del hierro, al bloquear la síntesis de hemoglobina y/o afectar la disponibilidad del mineral destinado a la eritropoyesis.²⁹⁻³⁰ Los estados pro-inflamatorios también pueden afectar la síntesis de las proteínas secretoras hepáticas, entre ellas, la transferrina especializada en el transporte del hierro.³⁰⁻³¹ La administración del probiótico contribuiría entonces a atenuar el tono de la respuesta inflamatoria sistémica y la expresión de la hepcidina, y de esta manera, incrementar la tasa de síntesis de la transferrina, y con ello, las cantidades de hierro disponibles para la eritropoiesis, a la vez que la aparición de glóbulos rojos nuevos y una mayor producción de hemoglobina.³²

Conclusiones:

El uso de probióticos en el tratamiento de la diarrea aguda en el lactante resultó en un aumento perceptible de la Hemoglobina y el hierro sérico, probablemente como resultado de la atenuación de la respuesta inflamatoria sistémica, una mayor síntesis de transferrina, y una disponibilidad incrementada de hierro para la eritropoiesis.

Limitaciones del estudio

El tratamiento con probióticos solo duró 10 días: el tiempo que permaneció ingresado el lactante en el servicio de pertenencia de los autores. De esta manera, se aseguró el cumplimiento del tratamiento por los cuidadores del niño. Se ha recomendado que el tratamiento con probióticos se extienda por 30 días, como mínimo, para un efecto clínico-humoral mensurable.¹ Aun así, a la conclusión del tratamiento fue posible observar cambios significativos en el metabolismo del hierro y la respuesta inflamatoria sistémica. Otros diseños experimentales deben adoptarse para evaluar la efectividad del tratamiento con probióticos incorporado en el programa de cuidados domiciliarios del lactante al egreso de la institución, y de común acuerdo con los grupos básicos de trabajo de la atención primaria de salud, mientras se asegura la continuidad terapéutica.

Agradecimientos:

Srta. Catherine Grisay (Engezhee, Bélgica), por el apoyo brindado en la conducción de esta investigación.

Referencias

1. Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shamir R; *et al.* Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: A position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58:531-9.
2. Huang JS, Bousvaros A, Lee JW, Diaz A, Davidson EJ. Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: A meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2002;47:2625-34.
3. Cremonini F, Di Caro S, Nista EC, Bartolozzi F, Capelli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Meta-analysis: The effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1461-7.
4. Rohde CL, Bartolini V, Jones N. The use of probiotics in the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea with special interest in *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Nutr Clin Pract* 2009;24:33-40.
5. Alisi A, Bedogni G, Baviera G, Giorgio V, Porro E, Paris C; *et al.* Randomised clinical trial: The beneficial effects of VSL# 3 in obese children with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39:1276-85.
6. Foolad N, Armstrong AW. Prebiotics and probiotics: The prevention and reduction in severity of atopic dermatitis in children. *Beneficial Microbes* 2014; 5:151-60.
7. Tsai YT, Cheng PC, Pan TM. Anti-obesity effects of gut microbiota are associated with lactic acid bacteria. *Applied Microbiol Biotechnol* 2014;98: 1-10.
8. Di Gioia D, Aloisio I, Mazzola G, Biavati B. Bifidobacteria: Their impact on gut microbiota composition and their applications as probiotics in infants. *Appl Microbiol Biotechnol* 2014;98: 563-77.
9. Ouwehand AC, Dong-Lian C, Weijian X, Stewart M, Ni J, Stewart T, Miller LE. Probiotics reduce symptoms of antibiotic use in a hospital setting: A randomized dose response study. *Vaccine* 2014;32:458-63.
10. Pattani R, Palda VA, Hwang SW, Shah PS. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infection among hospitalized patients: Systematic review and meta-analysis. *Open Medicine* 2013; 7:56-67.
11. Szajewska H, Ruszczyński M, Kolaček S. Meta-analysis shows limited evidence for using *Lactobacillus acidophilus* LB to treat acute gastroenteritis in children. *Acta Paediatrica*, 2014;103:249-55.

12. Brouwer ML, Wolt-Plompen SAA, Dubois AEJ, van der Heide S, Jansen DF, Hoijer MA; *et al.* No effects of probiotics on atopic dermatitis in infancy: A randomized placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2006; 36:899-906.
13. García Pastrana T, García Arnao O, Valerino Meriño I, Farramola Bello LA. Aspectos generales sobre el uso de antimicrobianos en Pediatría. *Rev Cubana Investigaciones Biomédicas* 2013;32:21-8.
14. Santana Porbén S, Barreto Penié J, González Pérez TL. Capítulo 4: Mediciones antropométricas. En: Programa de intervención alimentario, nutrimental y metabólico para hospitales pediátricos. Editorial PalcoGraf. La Habana: 2000.
15. Grimshaw J, Campbell M, Eccles M, Steen N. Experimental and quasi-experimental designs for evaluating guideline implementation strategies. *Family Practice* 2000;17:S11-S18.
16. Hollis S, Campbell F. What is meant by intention to treat analysis? Survey of published randomised controlled trials. *BMJ* 1999;319:670-47.
17. López San Román A, Bermejo F, Carrera E, Pérez Abad M, Boixeda D. Adhesión al tratamiento en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Rev Esp Enferm Dig* 2005; 97: 249-57.
18. Santana Porbén S, Barreto Penié J, González Pérez TL. Capítulo 5: Necesidades energéticas y nutrimentales. En: Programa de intervención alimentario, nutrimental y metabólico para hospitales pediátricos. Editorial PalcoGraf. La Habana: 2000.
19. Anónimo. PNO 2.016.98: Encuestas dietéticas. Manual de Procedimientos. Grupo de Apoyo Nutricional. Hospital Clínico-quirúrgico "Hermanos Ameijeiras". La Habana: 2012. Tercera Edición.
20. Jiménez R, Curbelo JL, Peñalver R. Relación del tipo de alimentación con algunas variables del crecimiento, estado nutricional y morbilidad del lactante. *Colombia Médica* 2005;36(4 Supl 3):19-25.
21. Marteau P, Seksik P, Jian R. Probiotics and intestinal health effects: A clinical perspective. *Br J Nutr* 2002;88(Suppl 1):S51-S57.
22. Santana Porbén S, Martínez Canalejo H. Manual de Procedimientos Bioestadísticos. Segunda Edición. EAE Editorial Académica Española. ISBN-13:9783659059629. ISBN-10: 3659059625. Madrid: 2012.
23. Jiménez García R, Sagaró González E, Peñalver Valdés R. Methodological algorithm for planning nutritional treatment for hospitalized children in a pediatric nutrition unit with limited resources. *Proceedings of the Annual Meeting and Postgraduate Course. NASPGHAN. Utah: 2005. pp 35.*
24. Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions— A review. *Int J Med Microbiol* 2010; 300:57-62.
25. De Preter V, Hamer HM, Windey K, Verbeke K. The impact of pre-and/or probiotics on human colonic metabolism: Does it affect human health? *Mol Nutr Food Res* 2011;55:46-57.
26. Bezkorovainy A, Kot E. Interaction of bifidobacteria with ferric iron. *Int Dairy J* 1998;8:507-12.
27. Sazawal S, Dhingra U, Hiremath G, Sarkar A, Dhingra P, Dutta A; *et al.* Effects of *Bifidobacterium lactis* HN019 and prebiotic oligosaccharide added to milk on iron status, anemia, and growth among children 1 to 4 years old. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 51:341-6.
28. Walker WA. Mechanisms of action of probiotics. *Clin Infect Dis* 2008; 46(Suppl 2):S87-S91.
29. Ganz T, Nemeth E. Iron sequestration and anemia of inflammation. *Seminars Hematol* 2009;46:387-93.
30. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004;113:1271-6.
31. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102:783-8.32.
32. Andreasen AS, Larsen N, Pedersen-Skovsgaard T, Berg RM, Møller K, Svendsen KD; *et al.* Effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. *Brit J Nutr* 2010;104:1831-8.

Journal

of Negative & No Positive Results



Original
Artículo inglés

Influence of sleep upon overweight in children and adolescents.

Influencia del sueño sobre el exceso de peso en niños y adolescentes.

Víctor Paredes Barato¹, Ismael San Mauro Martín¹, Elena Garicano Vilar¹, Esther Moraleda Ponzola¹, Sara López Oliva¹, Sara Sanz Rojo¹, Petar Petrov².

¹Research Center in Nutrition and Health. Paseo de la Habana, 43. 28036, Madrid. España.

²Researcher at Research Center in Nutrition and Health (Bulgaria-CINUSA Unit). Bulgaria.

Abstract

Introduction: Sleep restriction is an independent risk factor for weight gain and obesity and is significantly associated with the incidence and prevalence of obesity and various chronic non-communicable diseases. It leads to endocrine changes that might be associated with a higher intake of food and diurnal preference for energy-dense foods, generating a positive energy balance, leading to weight gain and increased risk of long-term obesity.

Objective: To analyze whether the decreases in the amount of night time sleep is a risk factor for weight gain and obesity development.

Methods: An anthropometric study (height, weight, BMI, waist circumference) was conducted in 549 students between 6 and 17 years. The amount of sleep was assessed by collecting hours of sleep on weekdays, naps and weekends and stating that school children should sleep 10 hours a day.

Results: Children who did not meet their recommended hours of sleep did not show statistically significant data in association with overweight or obese. The least amount of sleep was not negatively associated with BMI, or determined an increased risk for obesity.

Conclusion: Sleep factor has not been identified as involved in the epidemic of obesity in children and adolescents.

KEYWORDS

Sleep; Obesity; Healthy habits; Children; Adolescents.

Resumen

Introducción: La restricción del sueño es un factor de riesgo independiente para el aumento de peso y la obesidad y se asocia significativamente con la incidencia y la prevalencia de la obesidad y diversas enfermedades crónicas no transmisibles. Da lugar a cambios endocrinos que podrían estar asociados con una ingesta de alimentos diurna más alta y la preferencia por alimentos energéticamente densos, generando un balance energético positivo, lo que lleva al aumento de peso y un mayor riesgo de obesidad a largo plazo.

Objetivo: Analizar si la disminución de la cantidad de sueño nocturno sería un factor de riesgo para ganancia de peso y desarrollo de obesidad.

Métodos: Se realizó un estudio antropométrico (talla, peso, IMC, perímetro de cintura) a 549 escolares, entre los 6 y los 17 años. La cantidad del sueño se valoró recogiendo las horas de sueño entre semana, siesta y fin de semana y estableciendo que los niños en edad escolar deben dormir 10 horas al día.

Resultados: Los niños que no cumplieron con sus horas de sueño recomendadas no presentaban datos estadísticamente significativos en asociación con sobrepeso u obesidad. La menor cantidad de sueño no se asoció negativamente con el IMC, ni determinó un mayor riesgo para obesidad.

Conclusión: No se ha identificado el factor 'sueño' como involucrado en la epidemia de obesidad en niños y adolescentes.

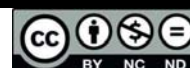
PALABRAS CLAVE

Sueño; Obesidad; Hábitos saludables; Niños; Adolescentes.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ismasmm@gmail.com (Ismael San Mauro Martín).

Recibido el 7 de septiembre de 2016; aceptado el 17 de septiembre de 2016.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

Introduction:

Childhood obesity is one of the most concerning problems in the public health domain of the 21st century. According to studies published in the last twenty years, prevalence of childhood obesity is significantly rising ⁽¹⁾. Obesity is a multifactorial, chronic and complex disease which affects increasing number of people. Obesity is characterized by excessive body fat accumulation and is manifested by overweight and increased body volume. There is experimental evidence that childhood obesity positively correlates with increased risk of early-onset cardiovascular disease at adult age, which has led to a studying field of great interest ⁽¹⁾. In the majority of the cases, obesity is linked with certain lifestyle patterns ⁽²⁾ and has a genetic component ⁽³⁾. Some of these patterns, such as nutritional choices ⁽⁴⁾ and sleep ⁽⁵⁾, are essential for optimal health. It has been found that several patterns of abnormal sleep favour the onset of obesity ⁽⁶⁾. Possible hypotheses linked with this observation are based on dysregulation of energy expenditure, hormonal balance and circadian rhythm, amongst others. Sleep restriction is associated with increased concentration of leptin and ghrelin in plasma - hormones which are involved in the molecular regulation of the appetite and satiety; with an increased activity of the hypocretin/orexin system, as well as with changes in glucose metabolism and in the autonomic nervous system ⁽⁷⁾. Connections between sleep duration and energy balance are increasingly gaining attention in the scientific literature ⁽⁸⁾.

Objectives:

The objective of this study is to analyze the effect of sleep duration over lean body mass in a representative sample of children and teenagers.

Materials and methods:

Study population:

The study population consisted of 549 boys and girls (49% boys and 51% girls) aged between 6 and 17 years. All participants were provided detailed description of the study and were given an informed consent to participate in the study, which was signed by their parents. Variables subject to analysis were: sex, age, body weight, height, body mass index and its corresponding percentiles according to age and sex, waist circumference, and duration of sleep in hours.

Anthropometric study:

The anthropometric study was accomplished by previously trained nutritionists in two different zones, one for each gender. The following body measures were taken: height, body weight, body mass index (BMI) and waist circumference. Height was measured with portable height rod SECA with precision of 1mm, with the child standing on its two feet, following the established procedure by the World Health Organization ⁽⁹⁾. Body weight was measured with a digital bioimpedance scale TANITA model BP-601 with 0.1-150 kg range. The waist circumference was measured in the middle point between the last rib and the crest of the ilium ⁽⁹⁾, with an inelastic body measuring tape (range 0-150 cm). BMI was calculated from body weight and height with the Quetelet index ⁽¹⁰⁾. In order to establish overweight and obesity cut offs, the BMI values were compared with the curves and growth tables published by the Institute for Research of Growth and Development of Orbegozo Foundation ⁽¹¹⁾, which consider overweight if BMI is higher than percentile 85 and lower than percentile 97 of the population of the same age and sex and obese if BMI is higher than percentile 97. Waist circumference was measured with a metallic body measuring tape (flexible, inelastic, graduated to no more than 5 mm) in the intermediate abdominal region between the last rib and the iliac crest, in standing position, following a normal expiration.

Two measures were taken for all anthropometric measurements and their arithmetic average was used.

Sleep study

The variable "Sleep" was calculated estimating the time (in hours) spent on sleep during a whole week including *siesta*. The weekly average of sleep was compared with the recommendation presented in the Guide for clinical interventions for sleep disorders (GCI, 2011) ⁽¹²⁾, which establishes that children and adolescents in school age (6-17 years) should sleep 10 hours a day.

Results:

Following BMI calculations, it was estimated that 2.7% of the participants were obese and 32.1% were overweight, totalling to 34.8% (Table I). Regarding sleep duration, 78.6% of the participants did not follow the recommendations of (10 hours/day) ⁽¹²⁾.

Table I. Initial descriptive data			
	Girls (n=280)	Boys (n=269)	Total (n=549)
	A (SD)	A (SD)	A (SD)
Age (years)	11.8 ± 2.4	11.9 ± 2.5	11.83 ± 2.4
Height (m)	1.51 ± 0.1	1.54 ± 0.2	1.52 ± 0.1
Body weight (kg)	46.6 ± 12.1	49.8 ± 16.1	48.2 ± 14.2
BMI (kg/m ²)	20.2 ± 3.4	21.4 ± 16.3	20.8 ± 11.6
Waist circumference (cm)	68.2 ± 9.4	71.4 ± 12.3	69.8 ± 11.0
Sleep during working days (h)	8.06 ± 1.6	8.25 ± 1.8	8.15 ± 1.7
Sleep during weekend (h)	9.58 ± 1.9	9.14 ± 2.3	9.37 ± 2.1
Sleep (average hours)	8.86 ± 1.3	9 ± 1.4	8.9 ± 1.3

Summary of the initial characteristics of the participants in the study, represented as frequency (n) and average (A) ± standard deviation (SD).

There was no statistically significant correlation between BMI and sleep duration ($p > 0.05$).

Table II. Correlation between sleep hours and BMI				
	Girls (n=280)	Boys (n=269)	Total (n=549)	Chi-square ^a
	A (SD)	A (SD)	A (SD)	
<i>Hours of sleep from Monday to Friday (during the week)</i>				
				0.482
Slight underweight	8.1 ± 1.3	7.44 ± 1.5	7.87 ± 1.4	
Normal weight	8.04 ± 1.6	8.26 ± 1.9	8.13 ± 1.7	
Overweight	7.9 ± 1.6	8.29 ± 1.7	8.12 ± 1.7	
Obesity	9.6 ± 0.6	8.75 ± 0.96	9.22 ± 0.8	
<i>Hours of sleep from Saturday to Sunday(weekend)</i>				
				3.023
Slight underweight	9.67 ± 2.4	9.38 ± 2.3	9.61 ± 2.3	
Normal weight	9.62 ± 1.9	9.1 ± 2.3	9.39 ± 2.1	
Overweight	9.34 ± 2.02	9.11 ± 2.3	9.21 ± 2.2	
Obesity	11.2 ± 0.8	10 ± 0.8	10.7 ± 1.0	
<i>Hours of sleep from Monday to Sunday (average)</i>				
				0.351
Slight underweight	8.7 ± 1.1	8 ± 1.6	8.4 ± 1.3	
Normal weight	8.9 ± 1.2	9.03 ± 1.4	8.97 ± 1.3	
Overweight	8.6 ± 1.4	8.8 ± 1.4	8.8 ± 1.4	
Obesity	9.8 ± 0.7	9.4 ± 1.01	9.7 ± 0.8	

Average (A) ± Standard Deviation (SD) of the hours dedicated to sleep during working days, at weekends, and during the whole week, stratified by participants BMI and sex. ^a Kruskal-Wallis test.

Discussion:

The duration of the sleep has become a risk factor for the development of childhood obesity. Lack of sufficient sleep has been associated with increase in body weight, higher BMI values and higher probability to become overweight and obese. Children and teenagers who sleep less than recommended have approximately a two-fold higher probability to be overweight/obese compared with those who sleep more ⁽¹³⁾. This was confirmed by cross-sectional studies ⁽¹⁴⁻¹⁶⁾, longitudinal studies ⁽¹⁷⁻¹⁸⁾ and meta-analysis ⁽¹⁹⁻²⁰⁾.

To date, the underlying causal mechanisms explaining how the lack of sleep promotes obesity are not fully understood. Experimental studies in healthy adults and children have provided evidence that sleep deprivation results in several neuroendocrine and inflammatory changes: impaired glucose metabolism, decreased insulin sensitivity, and increased levels of inflammatory mediators such as interleukin-6 and tumour necrosis factor ⁽²¹⁾.

Another possible mechanism by which sleep deprivation could predispose to weight gain is by increasing caloric intake ⁽²²⁾. Additional proposed routes include choosing foods of poor nutritional quality as well as reduced levels of activity during the day related to increased fatigue or changes in thermoregulation among those who are deprived of sleep ⁽²¹⁾. Moreover, the short duration of sleep may lead to obesity due to the increased time available for eating ⁽²³⁾. The above mentioned hormonal changes may contribute to energy imbalance and could consequently lead to overweight or obesity.

Changes that occur as a consequence of sleep deprivation in hormones related to hunger and appetite are of particular interest: sleep restriction has been shown to reduce levels of leptin, a satiety-promoting hormone, and increase levels of the appetite promoting hormone ghrelin ⁽²⁴⁻²⁶⁾, which leads to an increased appetite and subsequently increased consumption of food ⁽²⁷⁾. Moreno Aznar ⁽²⁸⁾ explained: "It is known that some hormones are affected by the circadian clock. For example, growth hormone is produced only during specific phases of sleep, and although this is an anabolic hormone not necessarily related to obesity, the same could occur with other hormones. That means that a sleep disorder may mean an imbalance in the rhythms of production of hormones throughout the day. "It may also happen that little sleep brings the person to wake up with not enough time for breakfast, to feel more tired, and prime other unhealthy behaviors throughout the day.

In general, sleep duration is positively associated with lower adiposity and a better quality of life, among others. However, experimental evidence for the association between sleep duration and cardiovascular and metabolic biomarkers is limited ⁽²⁹⁾.

Despite the clear association of previous studies between short sleep duration and the obese state, the results of longitudinal studies for this association are contradictory ⁽¹³⁾. In our study sample, no relationship between sleep duration and BMI was found. Moreover, in the study of Carson et al. ⁽³⁰⁾ duration of sleep was negatively associated ($p < 0.02$) with obesity risk markers.

Conclusion:

When analyzing the influence of sleep habits on weight status, statistically significant results were not found. It is not possible to determine whether failure to comply with current recommendations for duration of the sleep in children is the cause or the result of overweight in the population studied since the study is based on self-report of sleep duration of each subject.

Limitations:

Information on sleep duration was self-reported by the participants in the study. This method has limitations to assess sleep duration, since it often does not allow differentiating between sleep time and the time spent in bed without sleeping and, in addition, it cannot precisely establish the number and duration of *siestas*.

Conflict of interests:

Authors declare no conflicts of interest.

References

1. San Mauro I, Megias A, Bodega P, García de Angulo B, Rodríguez P, Grande G, et al. Factores condicionantes del estado ponderal. *Nutr Hosp* 2015; 31(1):178-82.
2. San Mauro I, Megias A, García de Angulo B, Bodega P, Rodríguez P, Grande G, et al. Influencia de hábitos saludables en el estado ponderal de niños y adolescentes en edad escolar. *Nutr Hosp* 2015; 31(5):1996-2005.
3. Felix JF, Bradfield JP, Monnereau C, van der Valk RJ, Stergiakouli E, Chesi A, et al. Genome-wide association analysis identifies three new susceptibility loci for childhood body mass index. *Hum Mol Genet* 2016; 25(2):389-403.
4. Sharma M. Dietary education in school-based childhood obesity prevention programs. *Adv Nutr* 2011; 2(2):207S-16S.
5. Carrillo-Larco RM, Bernabé-Ortiz A, Miranda JJ. Short sleep duration and childhood obesity: cross-sectional analysis in Peru and patterns in four developing countries. *PLoS One* 2014; 9(11):e112433.
6. Monerero MS. El exceso de peso en el mundo: causas y consecuencias. En: Monerero S, Iglesias P, Guijarro G, eds. *Nuevos Retos en la Prevalencia de la Obesidad: Tratamientos y calidad de vida*. 1ª ed. 2012; Bilbao: Fundación BBVA.
7. Chamorro RA, Duran SA, Reyes SC, Ponce R, Algarin CR, Peirano PD. La reducción del sueño como factor de riesgo para obesidad. *Rev Med Chile* 2011; 139:932-40.
8. Pin Arboledas G, Lluch Roselló A. El sueño en el obeso. Importancia del cribado clínico. *Acta Pediatr Esp* 2007; 65(2):74-8.
9. WHO. Waist circumference and waist-hip ratio: World Health Organization; 2008. Disponible en: http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_report_waistcircumference_and_waisthip_ratio/en/
10. Durnin JVGA, Fidanza F. Evaluation of nutritional status. *Bibl Nutr Dieta* 1985; 35: 20-30.
11. Hernández M, Castellet J, Narvaiza JL, Rincón JM, Ruiz I, Sánchez E, et al. *Curvas y tablas de crecimiento*. Instituto de Investigación sobre Crecimiento y Desarrollo, Fundación Faustino Orbegozo. Madrid: Editorial Garsi; 1988.
12. Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre Trastornos del Sueño en la Infancia y Adolescencia en Atención Primaria (GPC). *Guía de Práctica Clínica sobre Trastornos del Sueño en la Infancia y Adolescencia en Atención Primaria*. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de la Agencia Laín Entralgo; 2011 UETS Nº 2009/8.
13. Wu Y, Gong Q, Zou Z, Li H, Zhang X. Short sleep duration and obesity among children: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Obes Res Clin Pract* 2016; doi: 10.1016/j.orcp.2016.05.005.
14. Bagley EJ, El-Sheikh M. Familial risk moderates the association between sleep and zBMI in children. *J Pediatr Psychol* 2013; 38: 775–784.
15. Pileggi C, Lotito F, Bianco A, Nobile CG, Pavia M. Relationship between Chronic Short Sleep Duration and Childhood Body Mass Index: A School-Based Cross-Sectional Study *PLoS One* 2013; 8: e66680.
16. Magee L, Hale L. Longitudinal associations between sleep duration and subsequent weight gain: a systematic review. *Sleep Med Rev* 2012; 16: 231–241.
17. Lumeng JC, Somashekar D, Appugliese D, Kaciroti N, Corwyn RF, et al. Shorter sleep duration is associated with increased risk for being overweight at ages 9 to 12 years. *Pediatrics* 2007; 120: 1020–1029.
18. Carter PJ, Taylor BJ, Williams SM, Taylor RW. Longitudinal analysis of sleep in relation to BMI and body fat in children: The FLAME study. *BMJ* 2011; 342.
19. Chen X, Beydoun MA, Wang Y. Is sleep duration associated with childhood obesity? A systematic review and meta-analysis. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16: 265–274.
20. Cappuccio FP, Taggart FM, Kandala NB, Currie A, Peile E, et al. Metaanalysis of short sleep duration and obesity in children and adults. *Sleep* 2008; 31:619–626.
21. Hart CN, Hawley NL, Wing RR. Development of a Behavioral Sleep Intervention as a Novel Approach for Pediatric Obesity in School-aged Children. *Pediatr Clin North Am* 2016; 63(3):511-23.
22. Rechtschaffen A, Bergmann BM. Sleep deprivation in the rat by the disk-over-water method. *Behav Brain Res* 1995; 69:55-63.
23. Van Cauter E, Knutson KL. Sleep and the epidemic of obesity in children and adults. *Eur J Endocrinol* 2008; 159:S59-66.
24. Schmid SM, Hallschmid M, Jauch-Chara K, et al. A single night of sleep deprivation increases ghrelin levels and feelings of hunger in normal-weight healthy men. *J Sleep Res* 2008; 17(3):331–4.
25. Spiegel K, Leproult R, L'Hermite-Baleriaux M, et al. Leptin levels are dependent on sleep duration: relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(11):5762–71.
26. Spiegel K, Tasali E, Penev P, et al. Brief communication: sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med* 2004; 141(11): 846–50.

27. Taheri S, Lin L, Austin D, Young T, Mignot E. Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. *PLoS Med* 2004; 1:e62.
28. Mediavilla D. "Los niños duermen menos y eso influye en el aumento de la obesidad". *El Pais*, 2016. Available at: http://elpais.com/elpais/2016/06/20/ciencia/1466423955_046116.html
29. Chaput JP, Gray CE, Poitras VJ, Carson V, Gruber R, Olds T, et al. Systematic review of the relationships between sleep duration and health indicators in school-aged children and youth. *Appl Physiol Nutr Metab* 2016; 41(6 Suppl 3):S266-82.
30. Carson V, Tremblay MS, Chaput JP, Chastin SF. Associations between sleep duration, sedentary time, physical activity, and health indicators among Canadian children and youth using compositional analyses. *Appl Physiol Nutr Metab* 2016; 41(6 Suppl 3):S294-302.



Original
Artículo inglés

Cardiovascular disease markers responses in male receiving improved-fat meat-products vary by initial LDL-cholesterol levels.

La respuesta de marcadores de enfermedad cardiovascular al consumo de cárnicos con composición grasa mejorada depende de los niveles iniciales de LDL-colesterol.

Paloma Celada¹, Francisco José Sánchez-Muniz¹, Gonzalo Delgado-Pando², Sara Bastida¹, Manuel Espárrago-Rodilla³, Francisco Jiménez-Colmenero², Begoña Olmedilla-Alonso².

¹Departamento de Nutrición y Bromatología I (Nutrición). Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Madrid. España.

²Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Nutrición (ICTAN), CSIC. 28040-Madrid. España.

³Servicio de Análisis. Hospital de Mérida. Badajoz. España.

Abstract

Objectives: Cardiovascular disease (CVD) is prevalent in people at high meat-product consumption. To study the effect of consuming different Pâté and Frankfurter formulations on clinical/emergent CVD biomarkers in male volunteers with different initial LDL-cholesterol levels (< and \geq 3.36 mmol/L).

Method: Eighteen male volunteers with at least two CVD risk factors were enrolled in a sequentially controlled study. Pork-products were consumed during 4wk: reduced-fat (RF), omega-3-enriched-RF (n-3RF), and normal-fat (NF). Pork-products were separated by 4wk washout. Lipids, lipoproteins, oxidized LDL (oxLDL), apolipoproteins (apo) and their ratios, homocysteine (tHcys), arylesterase (AE), C-reactive protein (CRP), tumor necrotic factor (TNF α) were tested.

Results: The rate of change for AE, oxLDL, Lp(a), AE/HDL-cholesterol, LDL/apo B and AE/oxLDL ratios varied ($p < 0.05$) among periods only in volunteers with LDL-cholesterol \geq 3.36 mmol/L. TNF α decreased ($p < 0.05$) among volunteers with low-normal LDL-cholesterol values while AE increased ($p < 0.01$) in high LDL-cholesterol volunteers during the RF-period. AE increased while CRP decreased (both $p < 0.01$) in low-normal LDL-cholesterol volunteers while AE ($p < 0.001$) and apo B ($p < 0.01$) increased in the high LDL-cholesterol group during the n-3RF-period. Total cholesterol ($p < 0.05$) increased in the low/normal LDL-cholesterol group while tHcys decreased ($p < 0.05$) in the high LDL-cholesterol group during the NF-period. Differences in response in volunteers with low-normal vs. high initial LDL-cholesterol levels to the n-3RF but not to the RF meat-products seem evident.

Conclusions: Subjects with high LDL-cholesterol seem target for n-3RF products while subjects with LDL-cholesterol < 3.36 mmol/L were more negatively affected by NF-products. Any generalization about functional meat product or consumption should be avoided.

KEYWORDS

CVD risk markers; Frankfurters; Pâtes; low fat; omega-3; pork; high-CVD risk-subjects; LDL-cholesterol.

Resumen

Objetivos: La enfermedad cardiovascular (CVD) es prevalente en individuos con alto consumo de productos cárnicos. Estudiar los efectos del consumo de diferentes tipos de patés y salchichas Frankfurt sobre marcadores clásicos/emergentes de CVD en voluntarios con diferente concentración de LDL-colesterol (< y \geq 3,36 mmol/L).

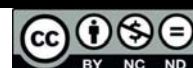
Métodos: Dieciocho hombres con al menos dos factores de riesgo de CVD se enrolaron en un estudio secuencial y controlado. Consumieron productos del cerdo reducidos en grasa (RF), RF-enriquecidos en omega-3 (n-3RF), y con contenido graso normal (NF) durante 4 semanas, separados por lavados de 4 semanas. Se determinaron lípidos, lipoproteínas, LDL oxidada (oxLDL), apolipoproteínas (apo) y sus cocientes, homocisteína (tHcys), arilesterasa (AE), proteína-C-reactiva (CRP), factor necrótico tisular (TNF α).

Resultados: La tasa de cambio para oxLDL, Lp(a), AE/HDL-colesterol, LDL/apo B y AE/oxLDL difirió ($p < 0,05$) entre periodos solo en voluntarios con LDL-colesterol \geq 3,36 mmol/L. En el periodo RF los valores de TNF α disminuyeron ($p < 0,05$) entre los voluntarios con LDL-colesterol normal-bajo mientras que la AE incrementó ($p < 0,01$) en aquellos con LDL-colesterol alto. La AE subió y la CRP bajó (ambas $p < 0,01$) en los voluntarios con LDL-colesterol normal-bajo mientras que la AE ($p < 0,001$) y apo B ($p < 0,01$) incrementaron en los voluntarios con LDL-colesterol alto durante el periodo n-3RF. El colesterol total ($p < 0,05$) subió en el grupo de LDL-colesterol

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: frasan@ucm.es (Francisco José Sánchez-Muniz).

Recibido el 10 de septiembre de 2016; aceptado el 17 de septiembre de 2016.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

normal-bajo mientras que la tHcys disminuyó ($p < 0,05$) en el grupo con LDL-colesterol elevado durante el periodo NF. Las diferencias en respuesta en los voluntarios de los dos grupos fueron evidentes en el periodo n-3RF, pero no en el RF.

Conclusiones: Los sujetos con LDL-colesterol elevado resultaron ser los individuos diana para los productos n-3RF mientras que aquellos con niveles de LDL-colesterol $< 3,36$ mmol/L se afectaron más negativamente por el de NF. Debe evitarse cualquier generalización sobre los beneficios del consumo de cárnicos funcionales.

PALABRAS CLAVE

Marcadores de riesgo; cerdo salchichas tipo Frankfurt; patés; bajo-en-grasa; omega-3; alto riesgo cardiovascular; LDL-colesterol.

Abbreviations:

AE: arylesterase
apo A1: apolipoprotein A1
apo B: apolipoprotein B
Lp(a): lipoprotein(a)
CRP: C-reactive protein
tHcys: homocysteine
oxLDL: oxidized LDL

Introduction:

Despite the nutritional properties of meat and meat-products, concerns exist on their consumption, specifically at daily high amounts^(1,2). Consumption of pork-products with improved fat quality and content could impart health benefits^(3,4). Our group has demonstrated that the consumption of pâtés and frankfurters with improved fat quality and content affects positively some anthropometric measurements without significantly changing the consumption of macronutrients other than omega-3 PUFAs in male at-risk volunteers⁽⁵⁾ and improved LDL-cholesterol and lipoprotein ratios in a sample of male and female volunteers⁽⁴⁾, or of emergent cardiovascular disease (CVD) markers of males at cardiovascular (CVD) risk⁽⁶⁾. However, volunteer's dietary response displayed striking interindividual variability. To this respect, Beynen *et al.*⁽⁷⁾ classified individuals as hypo, normal and hyperresponders according to their response adjustments to expected equations. Furthermore, expected response could be different in volunteers presenting different basal concentrations of some disease biomarkers (e.g. cholesterol levels⁽⁸⁾), or gene polymorphisms⁽⁹⁾, clearly suggesting that functional food should be exclusively or preferentially consumed by target individuals⁽¹⁰⁾. The present paper hypothesized that the effect of improved-fat pâtés and frankfurters on the lipoprotein profile, atherogenic lipoprotein and apolipoprotein (apo) ratios, and emergent CVD biomarkers (e.g. C-reactive protein (CRP), tumor necrotic factor alpha (TNF α), lipoprotein (a) (Lp(a)), homocysteine (tHcys), arylesterase (AE), oxidized LDL (oxLDL), LDL-c/apo B ratio) varies in volunteers at CVD risk presenting normal-low and high LDL-cholesterol levels (LDL-cholesterol $<$ and ≥ 3.36 mmol/L respectively). Present study aims to identify differences in responses of volunteers within the low-normal or high LDL-cholesterol groups. This aim would be especially valuable when the effect on any biomarker of the whole volunteers' population studied appear as non-significant or non-relevant.

Materials and methods:

Subjects.

Forty-eight subjects were interested and contacted through advertisements in various universities, research centres and several notice boards. Study design and enrolment inclusion and exclusion criteria have been published in detail elsewhere^(4,6). Briefly, the selected subjects fulfilled the inclusion criteria: total cholesterol levels ≥ 5.2 mmol/L, LDL cholesterol levels ≥ 2.84 mmol/L, overweight (BMI, 25-34.9 kg/m²) and willingness to consume 200 g of frankfurters and 250 g of pâté per week. The exclusion criteria were: use of drugs or plant sterol-enriched beverages/foods to control cholesterol levels, hypertension or obesity; regular consumption of n-3 enriched food products; intolerance of or allergy to any of the components of the meat products. Volunteers were requested to live as they did before the study, maintaining their normal patterns of activity, and were urged to replace meat and meat products in their habitual diet with helpings of the pork-products provided and to maintain a varied diet. All subjects gave their written informed consent after receiving oral and written information about the study. Information on all biomarkers tested was available for a total of eighteen male volunteers who completed the three experimental periods of the study. The study was approved by the Ethical Committee for Clinical Investigation of Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda (Spain) (Acta nº 261, dated 20/ 12/ 2010) and the Bioethical Committee of the Spanish National Research Council.

Meat products.

Frankfurters and pâtés were designed and developed in the pilot plant of the Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN, CSIC, Madrid, Spain). Following slight modifications of the standard procedure^(11,12), three different batches of each type of pork-products were produced: a) reduced-fat-(15% fat)-products (RF); b) reduced-fat (15% fat) n-3 enriched pork-products (n-3RF) where pork backfat was replaced by a combination of olive, linseed and fish oils (composition percentages 44.39, 37.87 and 17.74, respectively); and c) normal-fat control-products (NF) (18% fat for frankfurters, 30% fat for pâtés).

Intervention study design.

Volunteers were enrolled in a non-randomized, sequentially controlled study of 5 months duration. The non-randomization was due to limitations in the production of the meat products in the pilot plant. Each one consumed 200 g frankfurters and 250 g pâtés per week in each of three periods, separated by 4-week washout periods. During the washout phases the subjects followed their habitual diets.

During the first dietary intervention volunteers consumed RF-products in which the fat source was 100% of animal origin. In the second dietary intervention they consumed the RF-n-3-enriched frankfurters and pâtés, providing 2 g of n-3 fatty acids per day, of which 1.5 g was linoleic acid and around 0.4 g eicosapentaenoic plus docosahexaenoic acids. Finally, during the third dietary intervention normal-fat frankfurters and pâtés (NF) were consumed. These NF-products were similar in fat content to those usually found in the market. The composition of meat products is summarized in **table 1**.

Table 1: Main details of the assayed pork products						
	Frankfurters			Pâtés		
	RF	n-3RF	NF	RF	n-3RF	NF
Macronutrients						
Energy (kcal)	213	217	239	203	212	346
Carbohydrates (g)	0	0.09	0	1.3	1.4	1.3
Dietary fibre (g)	0	0.31	0	0	0.29	0
Total fat (g)	15.3	15.1	18	15.2	15.5	30.8
SFA (g)	5.7	2.8	6.7	4.7	3.1	9.5
MUFA (g)	7.2	6.7	8.5	8.4	6.3	17.1
PUFA (g)	1.5	4.8	1.8	1.3	5.2	2.6
PUFA/SFA	0.3	1.71	0.27	0.28	1.68	0.27
[PUFA+MUFA]/SFA	1.5	4.11	1.54	2.06	3.71	2.07
n6/n3 PUFA	6.5	0.47	7.5	5.5	0.46	11
Protein (g)	17.9	19.4	18.3	13.3	14.2	13.2
Cholesterol (mg)	49.8	41	51.4	138	129	147
Water (g)	66.8	65.2	63.7	69.2	64.8	50.7
Vitamins						
Vitamin D (µg)	0	0	0	0.47	0.47	0.47
Vitamin E (mg)	0.017	0.75	0.02	0.22	0.89	0.24
Vitamin B ₁ (mg)	0.54	0.54	0.54	0.28	0.27	0.29
Vitamin B ₂ (mg)	0.14	0.14	0.14	1.1	1.1	1.1
Niacin Eq. (mg)	8.8	8.3	8.9	9.5	9	10.2
Vitamin B ₆ (mg)	0.36	0.31	0.37	0.34	0.3	0.4
Folates (µg)	3.9	6.8	4	46.7	49.3	47.2
Vitamin B ₁₂ (µg)	2	2	2	13.5	13.5	13.5
Vitamin C (mg)	0	0.04	0	7.7	7.7	7.7
Vitamin A (Retinol Eq. µg)	0	0	0	11882	11882	11882
Minerals						
Ca (mg)	4.7	7.1	4.8	30.2	32.4	30.7
Fe (mg)	1.3	1.2	1.3	6.4	6.4	6.5
I (mg)	4.1	2.5	4.5	10.6	9	12.4
Mg (mg)	21.2	23.7	21.2	21	23.3	21.7
Zn(mg)	1.6	1.5	1.6	2.8	3.7	2.9
Se (mg)	9.1	9.2	9	21.5	21.6	21.7
Na (mg)	909	823	927	909	827	1004
K (mg)	198	211	199	218	231	232
P (mg)	116	117	116	192	194	199

Modified from Celada *et al.*⁽⁶⁾

Statistical analysis.

Sample size calculation was performed on the basis of a mean value for 3.36 mmol/L LDL-cholesterol. A sample size of 18 subjects (SD = 0.41 mmol/L) (15.86 mg/dL) is necessary to obtain a 10% difference in LDL-cholesterol (0.36 mmol/L) (13.92 mg/dL) between two consecutive visits with 90 % power and an alpha error of 0.05. When population was classified according to two groups of 8-10 persons each (e.g. low-normal vs. high LDL-cholesterol values), the statistical power remained about 70%. The Kolmogorov-Smirnov test was used to assess normal value data distribution. The paired Student t-test was employed to determine the effect of the different meat product in each intervention period and to assess differences in response between both LDL-cholesterol groups. Rate of change differences [100* (Final value - Baseline value) / Baseline value] between periods were stated using the general linear model of repeated measures (GLM) followed by Least Standard Deviation (LSD) *post-hoc*. Significance was set at p<0.05. All statistics were performed

with the IBM SPSS statistics package v.22.0.

Determinations of Lipids, Lipoproteins, AE, and other CVD risk

All samples from each volunteer were analysed on the same day to minimize inter-day analytical variability. LDL- and HDL-cholesterol (BioSystems LDL and HDL Direct), total cholesterol (TC) and triglyceride concentrations were assessed by enzymatic colorimetric kit (BioSystems Cholesterol and BioSystems Triglycerides Glycerol phosphate oxidase/peroxidase, respectively). Serum apo A, apo B and Lp(a) were measured by an immunoturbidimetric method in Tina-quant® Roche Diagnostics (Basel, Switzerland).

Serum oxLDL levels were quantified by an ELISA system (Mercodia AB, Uppsala, Sweden). Serum AE activity was measured using serum mimetic as a buffer⁽¹³⁾. One unit of AE was defined as the phenol (mmol) formed from phenyl acetate per min. oxLDL was determined using an ELISA test kit from Mercodia Laboratories (Uppsala, Sweden). tHcys was measured by fluorescence polarization immunoassay (Abbott Diagnostics, IL, USA). Serum TNF α was determined using enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA) (Human TNF alpha ELISA, Diaclone, France) according to the manufacturer's manual. Serum CRP was measured using enzyme immunoassay for the quantitative high sensitive determination of C-Reactive Protein a (hsCRP ELISA, Kiel, Germany) according to the manufacturer's manual and the colour intensity evaluated using a microplate reader (LT-4000, Labtech International Ltd., United Kingdom). All assays were properly calibrated and performed under internal and external quality controls provided by the manufacturers and Sociedad Española de Química Clínica (SEQC) respectively.

TC/HDL-cholesterol, LDL-cholesterol/HDL-cholesterol, apo A1/apo B, HDL-cholesterol/apo A1, and LDL-cholesterol/apo B were calculated. AE/HDL-cholesterol, the AE/oxLDL, and the oxLDL/LDL-cholesterol ratios were determined to assess the antioxidant availability of HDL and the capacity of AE to neutralize oxLDL⁽¹⁴⁾.

Results:

Table 2 shows non-significant differences between periods in the rate of change of any parameter tested among volunteers presenting initial LDL-cholesterol values < 3.36 mmol/L. However, rates of change for AE (p<0.001), oxLDL (p=0.049) and Lp(a) (p=0.049) differed significantly between periods in those volunteers with ≥ 3.36 mmol/L initial LDL-cholesterol values.

	Initial LDL-c ¹	Basal RF	Final RF	RF Rate of change	Basal n-3RF	Final n-3RF	n3RF Rate of change	Basal NF	Final NF	NF Rate of change	p+
Total cholesterol, mmol/L	1	5.76±0.73	5.69±0.67	-0.9 (-9.0, 7.2)	5.74±0.79	5.70±0.63	0.1 (-9.9, 10.0)	5.49±0.92	5.92±0.85*	8.5 (0.4, 16.7)	0.22
	2	6.05±0.28	6.13±0.27	1.3 (-1.9, 4.6)	5.84±0.46	6.23±0.58	7.1 (-0.6, 14.8)	6.21±0.74	6.01±0.51	-2.6 (-9.3, 4.0)	0.13
LDL-cholesterol, mmol/L	1	2.89±0.34	3.04±0.66	4.6 (-8.5, 17.7)	3.14±0.52	2.93±0.41	-4.2 (-20.2, 11.8)	2.94±0.41	3.3±0.82	11.7 (-6.1, 29.6)	0.31
	2	3.75±0.38	3.84±0.54	2.4 (-6.5, 11.3)	3.83±0.67	3.52±0.56**	-7.4 (-12.8, -2.1)	3.86±0.52	3.82±0.61	-0.1 (-11.6, 11.4)	0.24
HDL-cholesterol, mmol/L	1	1.14±0.24	1.21±0.26	6.6 (-0.9, 14.1)	1.27±0.22	1.27±0.25	-0.3 (-10.1, 9.5)	1.22±0.2	1.20±0.26	-2.1 (-11.5, 7.4)	0.18
	2	1.21±8.1	1.22±9.2	0.8 (-6.5, 8.1)	1.18±9.0	1.21±8.0	4.0 (-7.2, 15.1)	1.21±7.7	1.27±10.9	4.7 (-6.4, 15.7)	0.80
Triglycerides, mmol/L	1	1.59±1.1	1.37±0.35	10.2 (-24.8, 45.2)	1.22±0.52	1.46±0.59	24.7 (-12.4, 61.7)	1.53±1.08	1.37±0.64	17.5 (-21.2, 56.3)	0.80
	2	1.39±0.67	1.26±0.62	-3.1 (-30.7, 24.5)	1.40±0.57	1.57±1.06	7.5 (-16.0, 31.0)	1.55±0.83	1.28±0.48	-3.1 (-31.0, 24.7)	0.66
Arylesterase, U/L	1	321±122	385±106	33.4 (-11.0, 77.7)	335±124	438±127**	37.6 (11.4, 63.7)	214±55.2	225±69.4	10.1 (-23.9, 44.2)	0.48
	2	266±62.2	348±108**	29.9 (14.6, 45.2) ^b	240±109	397±119***	81.8 (46.8, 116.8) ^a	196±38.2	179±59.0	-7.7 (-31.1, 15.6) ^c	0.001
oxLDL, U/L	1	53.7±12.2	49.6±7.9	-5.4 (-18.4, 7.6)	53.7±12.2	54.2±15.9	3.7 (-29.7, 37.1)	53.7±12.2	64.9±20.4	22.0 (-5.1, 49.1)	0.17
	2	59.7±7.2	61.9±7.3	4.0 (-3.0, 11.1) ^{ab}	59.7±7.2	59.8±11.3	0.3 (-9.9, 10.5) ^b	59.7±7.2	65.8±9.1	11.3 (-1.8, 24.5) ^a	0.049
CRP ² , µg/mL	1	4.0±5.9	3.0±3.2	43.7 (-46.1, 133.5) ^a	3.9±3.4	2.1±2.5**	-61.0 (-92.6, -29.3) ^b	5.4±5.1	5.2±6.8	30.9 (-103, 164) ^{ab}	0.14
	2	1.8±2.2	1.5±1.0	92.4 (-68.8, 253.7)	1.8±1.4	2.4±3.1	183.8 (-131.5, 499)	1.7±0.8	2.4±2.1	39.8 (-14.4, 94.0)	0.46
TNF α , pg/mL	1	26.4±10.4	17.9±6.9*	-27.1 (-49.9, -4.3)	20.8±9.0	16.8±11.6	-21.2 (-50.5, 8.0)	26.4±17.1	15.3±13.2	-17.8 (76.6, 40.9)	0.87
	2	29.6±15.4	18.7±10.7	-24.5 (-55.1, 6.2)	16.1±12.2	17.9±5.2	140 (-93.3, 373)	21.6±12.7	24.4±15.5	39.2 (-45.0, 123.4)	0.19
apo A1, g/L	1	1.45±0.23	1.47±0.26	1.3 (-2.1, 4.6)	1.47±0.23	1.53±0.28	4.7 (-7.3, 16.6)	1.47±0.24	1.43±0.28	-2.9 (-8.0, 2.2)	0.33
	2	1.39±0.17	1.37±0.18	-1.3 (-5.6, 3.0)	1.36±0.2	1.35±0.17	-0.2 (-7.1, 6.7)	1.37±0.18	1.41±0.24	3.4 (-5.8, 12.7)	0.58
apo B, g/L	1	1.08±0.26	1.04±0.22	-2.8 (-10.3, 4.6)	1.05±0.24	1.00±0.23	-4.4 (-17.7, 8.9)	1.03±0.37	1.04±0.26	3.4 (-7.6, 14.4)	0.51
	2	1.15±0.12	1.15±0.12	0.2 (-4.2, 4.5)	1.10±0.14	1.17±0.14**	6.1 (1.3, 10.6)	1.15±0.11	1.13±0.13	-1.6 (-7.3, 4.2)	0.12
Lp(a), mg/L	1	78.5±95.9	84.7±102.8	7.9 (-15.4, 31.2)	78.1±92.5	74.3±93.5	-6.2 (-21.6, 9.2)	81.4±109.5	85.9±109.4	7.2 (-3.4, 17.8)	0.32
	2	112.1±111.5	98.1±92.4	-8.2 (-16.9, 0.5) ^{ab}	103.2±100.9	101.2±106	-6.8 (-15.5, 1.9) ^b	101.5±100.3	108.9±112.1	10.5 (-3.6, 24.5) ^a	0.049
Homocysteine, µmol/L	1	13.2±1.8	12.5±1.7	-5.0 (-10.1, 0.9) ^b	12.7±1.5	13.0±1.8	3.2 (-3.4, 9.8) ^a	13.4±1.8	13.0±1.7	-1.9 (-12.7, 9.0) ^{ab}	0.29
	2	13.4±2.9	12.8±2.8	-4.8 (-10.0, 0.4)	12.9±2.3	12.9±2.6	0.4 (-8.9, 9.7)	14.3±2.7	13.2±2.6*	-6.9 (-13.9, 0.1)	0.34

Values are means \pm SDs; ¹1, LDL-cholesterol <3.36 mmol/L, 2, LDL-cholesterol ≥ 3.36 mmol/L; ²CRP, C-reactive protein. RF, reduced fat product; n-3RF, n-3 enriched reduced fat product; NF, normal fat product; *p<0.050, **p<0.010, ***p<0.001 with respect to its respective baseline; Rate of change (%). 100*(mean (CI 95%) of RF or n-3 RF or NF - baseline/baseline). p+, probability obtained by the general linear model (GLM) of repeated measures. Different letters in the same row (a > b > c, repeated measures followed *post-hoc* LSD, at least p<0.05) indicate significant differences.

Table 2 also shows that during the RF-period, TNF α decreased (p<0.05) among volunteers with initial low-normal LDL-cholesterol values while AE increased (p<0.01) in volunteers with high LDL-cholesterol values. During the n-3RF-period, AE increased (p<0.01) while CRP decreased (p<0.01) in low initial LDL-cholesterol volunteers while AE (p<0.001) and apo B (p<0.01) increased in the high LDL-cholesterol group. During the NF-period TC (p<0.05) increased in the low/normal initial LDL-cholesterol group while tHcys decreased (p<0.05) in the high LDL-cholesterol group.

Table 3 shows that only the rates of change of the TC/HDL-cholesterol (p=0.064) and AE/oxLDL (p=0.079) ratios tended to be affected in volunteers with LDL-cholesterol < 3.36 mmol/L initial values. In volunteers with initial LDL-cholesterol ≥ 3.36 mmol/L, the rates of change for AE/HDL-cholesterol (p<0.001), LDL-cholesterol/apo B ratio (p=0.007)

and the AE/oxLDL ratio ($p=0.004$) differed significantly between periods.

Table 3. Rate of change of cardiovascular disease ratios to the three experimental pork products in subjects with initial low-normal/high LDL-cholesterol values											
	Initial	RF-basal	RF	RF Rate of	n-3RF-basal	n-3RF	n-3RF Rate of	NF-basal	NF	NF Rate of	p +
	LDL-c ¹			change			change			change	
TC/HDL-cholesterol	1	5.3±1.7	4.9±1.3	-6.3 (-17.4, 4.8) ^p	4.6±1.1	4.7±1.1	0.5 (-4.7, 5.6) ^{ab}	4.6±1.3	5.2±1.4	12.8 (-5.6, 31.1) ^a	0.064
	2	5.1±0.8	5.2±0.9	1.5 (-6.9, 9.8)	5.1±0.8	5.3±1.1	4.5 (-6.1, 15.1)	5.3±1.1	4.9±1.0	-5.8 (-14.5, 2.9)	0.22
LDL-cholesterol/ HDL-cholesterol	1	2.6±0.7	2.6±0.8	-9.6 (-16.2, 14.3)	2.5±0.6	2.4±0.5	-4.4 (-12.8, 4.0)	2.5±0.6	2.9±1.1	16.5 (-10.1, 43.0)	0.11
	2	3.2±0.5	3.3±0.7	2.7 (-9.9, 15.3)	3.3±0.6	3.0±0.5*	-9.4 (-18.5, -0.4)	3.3±0.7	3.1±0.8	-3.6 (-14.8, 7.6)	0.24
AE/ HDL-cholesterol	1	281±101	318±65.2	24.3 (-14.4, 63.0)	264±95.2	353±89*	40.0 (7.8, 72.3)	176±36.3	189±76	12.0 (-20.1, 44.1)	0.48
	2	220±54.4	286±94.5**	30.1 (12.0, 48.2) ^b	203±76.6	328±110.3***	74.8 (48.6, 101.1) ^a	162±43.5	141±47.1	-11.6 (-33.1, 9.9) ^c	<0.001
apo A1 / apo B	1	1.4±0.4	1.5±0.4	4.7 (-0.7, 10.1)	1.5±0.4	1.6±0.5	11.8 (-8.2, 31.7)	1.5±0.5	1.4±0.4	-4.9 (-15.9, 6.2)	0.19
	2	1.2±0.2	1.2±0.2	-1.1 (-7.3, 5.1)	1.3±0.3	1.2±0.3	-5.7 (-12.6, 1.2)	1.2±0.2	1.3±0.3	5.6 (-5.1, 16.3)	0.12
HDL-cholesterol/ apo A1	1	0.3±0.03	0.3±0.03	5.4 (-2.1, 12.9)	0.3±0.02	0.3±0.03	-4.3 (-10.2, 1.7)	0.3±0.1	0.3±0.03	1.2 (-9.3, 11.6)	0.18
	2	0.3±0.04	0.3±0.04	2.7 (-7.3, 12.6)	0.3±0.03	0.3±0.05	4.0 (-2.9, 10.9)	0.3±0.04	0.3±0.04	1.3 (-5.4, 8.0)	0.86
LDL-cholesterol/ apo B	1	1.1±0.2	1.1±0.2	7.6 (-2.6, 17.7)	1.2±0.2	1.2±0.3	1.0 (-12.8, 14.9)	1.2±0.3	1.2±0.2	9.5 (-13.4, 32.4)	0.70
	2	1.3±0.2	1.3±0.1	2.2 (-5.3, 9.8) ^a	1.3±0.1	1.2±0.2***	-12.5 (-18.2, -6.8) ^b	1.3±0.2	1.3±0.1	1.4 (-7.9, 10.8) ^a	0.007
LDL-cholesterol/ apo B ²	1	1525±269	1626±265	7.6 (-2.6, 17.7)	1667±217	1689±368	1.0 (-12.8, 14.9)	1680±421	1757±315	9.5 (-13.4, 32.4)	0.70
	2	1808±218	1837±208	2.2 (-5.3, 9.8) ^a	1910±212	1670±238	-12.5 (-18.2, -6.8) ^b	1859±270	1863±184	1.4 (-7.9, 10.8) ^a	0.007
AE/oxLDL	1	6.0±2.8	7.6±2.3*	39.9 (-2.0, 81.9) ^a	6.2±2.3	8.4±2.5*	47.4 (5.7, 89.0) ^{ab}	4.1±1.6	3.7±1.5	-2.7 (-35.1, 29.8) ^b	0.079
	2	4.5±1.1	5.6±1.3**	25.7 (9.8, 41.6) ^b	4.0±1.8	6.8±2.1**	87.8 (39.5, 136.1) ^a	3.3±0.6	2.7±0.8*	-17.3 (-35.2, 0.7) ^c	0.004

Values are means ± SDs; ¹1, LDL-cholesterol <3.36 mmol/L, 2, LDL-cholesterol ≥3.36 mmol/L; ²Molar ratio; RF, reduced fat product; n-3RF, n-3 enriched reduced fat product; NF, normal fat product; * $p<0.050$, ** $p<0.010$, *** $p<0.001$ with respect to its respective baseline; Rate of change (%). 100*(mean (CI 95%) of RF or n-3RF or NF - baseline/baseline). p +, probability obtained by the general linear model (GLM) of repeated measures. Different letters in the same row (a > b > c, repeated measures followed *post-hoc* LSD, at least $p<0.05$) indicate significant differences.

Figures 1-3 summarize significant differences between rates of change occurring in volunteers with low-normal vs. high initial LDL-cholesterol values. No significant differences ($p>0.05$) were found for any parameter or ratio following the RF-period between both groups of volunteers. Following the n-3RF-period differences between groups were observed for AE ($p<0.05$) and opposite tendencies in rates of change were observed for apo A1/apo B, LDL-cholesterol/apo B and HDL-cholesterol/apo A1 ratios. In the NF-period, differences in the rates of change of TC and TC/HDL-cholesterol ($p<0.05$) were observed between both groups of volunteers.

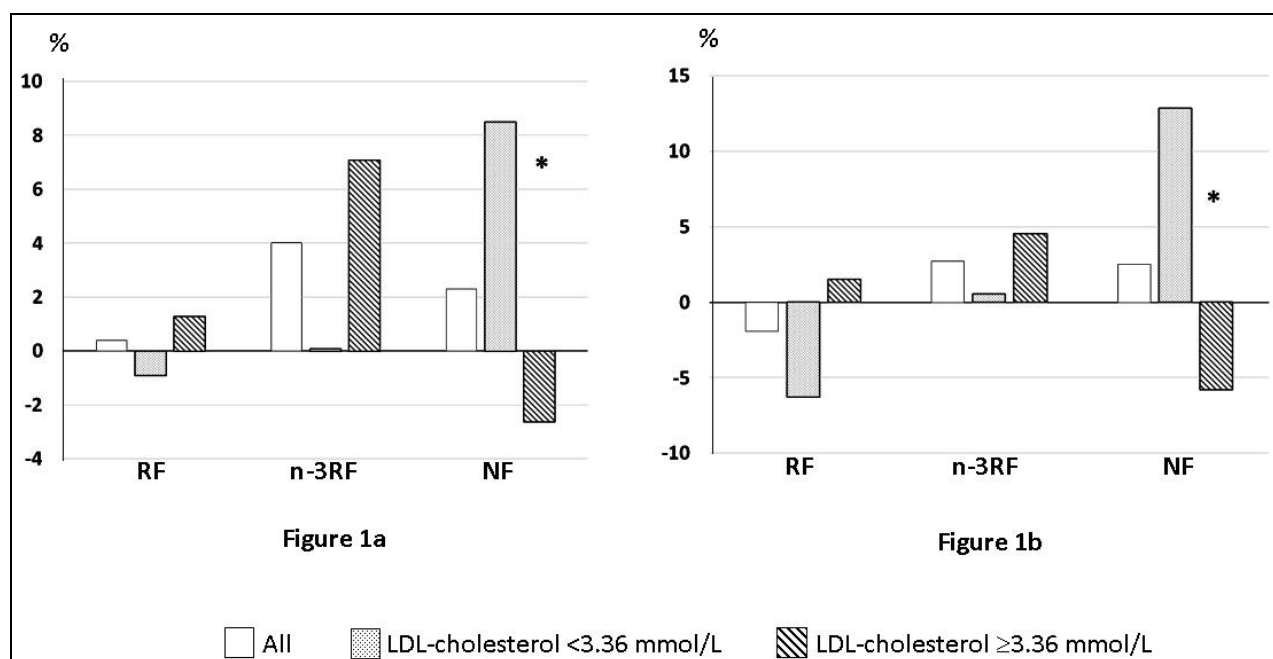


Figure 1. Rate of change (%) for total cholesterol (Fig. 1a) and the total cholesterol/HDL-cholesterol ratio (Fig. 1b) following the reduced-fat (RF), the n-3 reduced-fat (n-3RF) and normal-fat (NF) periods in volunteers classified according to initial LDL-cholesterol values, <3.36 mmol/L or ≥3.36 mmol/L. * $p<0.05$, low-normal LDL-cholesterol vs. high LDL-cholesterol values.

Discussion:

In order to identify targets for these meat products, volunteers were classified according to their initial LDL-cholesterol levels. n-3RF-products affected volunteers' variables more than the other two products. Results during the n-3RF-period in volunteers with high initial LDL-cholesterol levels were notable, with LDL-cholesterol and LDL-cholesterol/HDL-cholesterol values diminishing and AE and apo B increasing. LDL-cholesterol reduction has been defined as a central factor for CVD risk improvement⁽¹⁵⁾. According to present results this reduction should be significant, thus the CVD risk, only in high-LDL-cholesterol individuals. However, as each LDL contains only one molecule of apo B100⁽¹⁶⁾, the apo B increase found during the n-3RF-period suggests that more LDLs were present; in addition, the LDL-cholesterol/apo B ratio

indicated that these LDLs were denser and smaller. Nonetheless, the observed increase in AE activity (AE, AE/oxLDL, AE/HDL-cholesterol) would be enough to keep oxLDL values low in these theoretically more atherogenic LDL particles. No clear hypothesis can be drawn for the increase in LDL numbers; however, it has been reported that LDL particles enriched with n-3 PUFAs are poorly recognized by LDL receptors in some people⁽¹⁷⁾.

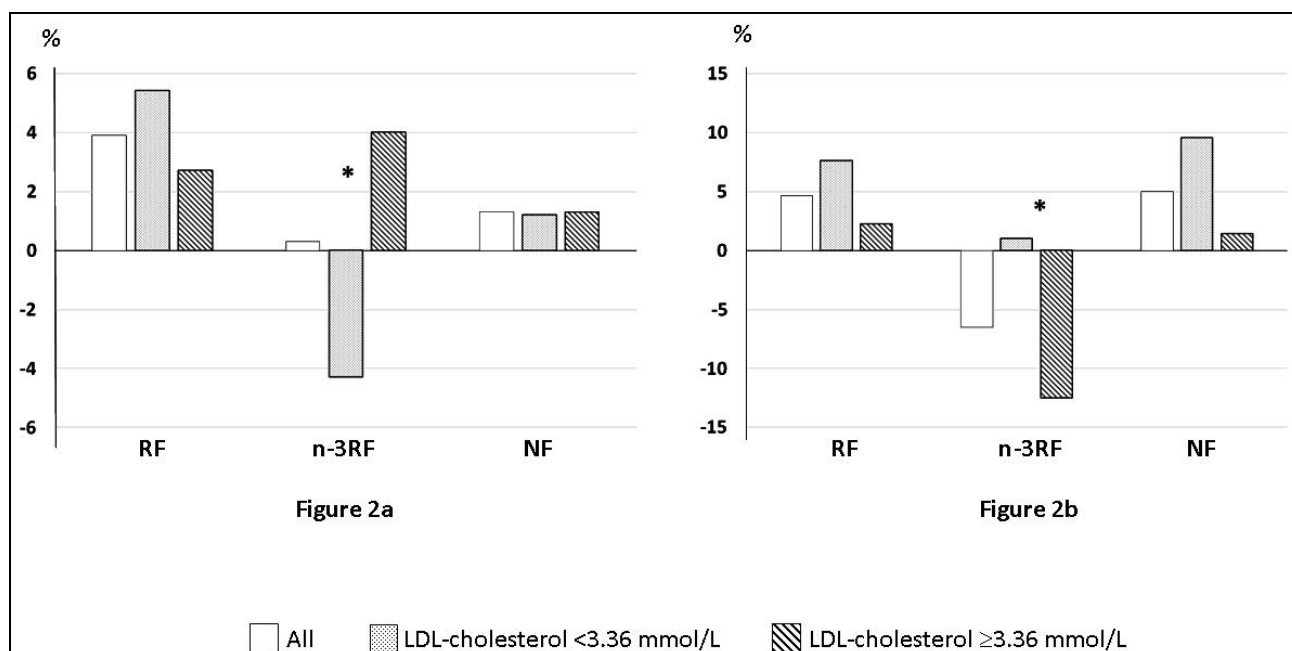


Figure 2. Rate of change (%) for HDL-cholesterol/apo A1 ratio (Fig. 2a) and LDL-cholesterol/apo B ratio (Fig. 2b) following the reduced-fat (RF), the n-3 reduced-fat (n-3RF) and normal-fat (NF) periods in volunteers classified according to initial LDL-cholesterol values, <3.36 mmol/L or ≥3.36 mmol/L. *p<0.05, low-normal LDL-cholesterol vs. high LDL-cholesterol values.

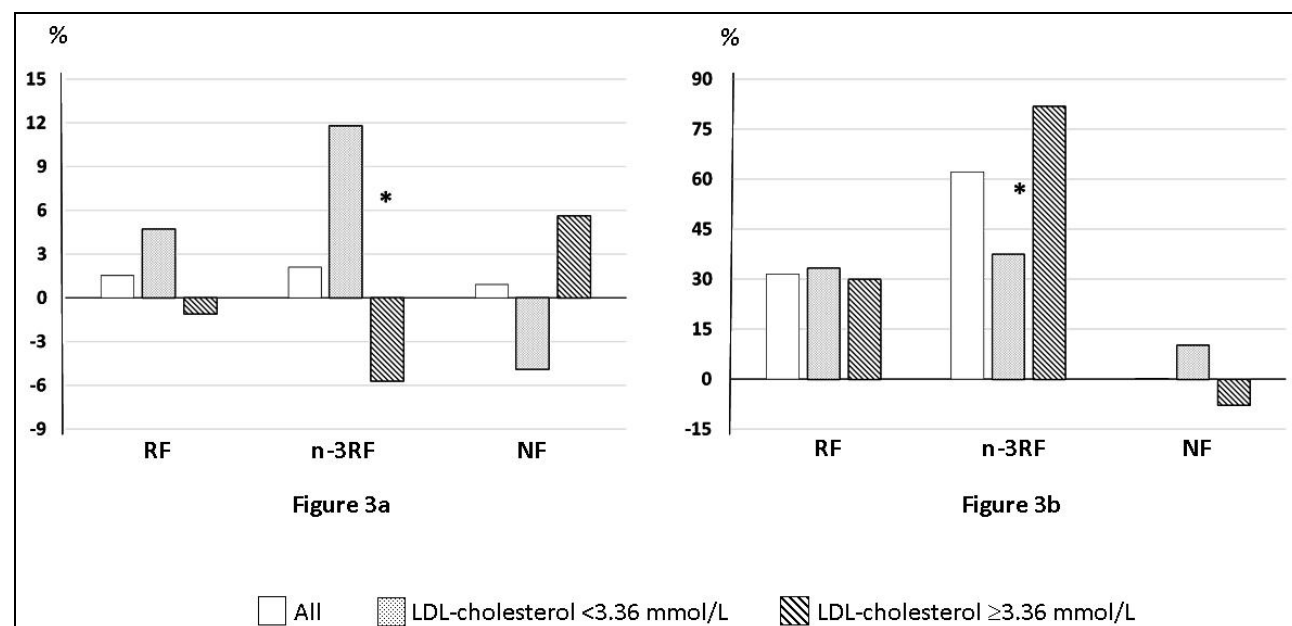


Figure 3. Rate of change (%) for apo A1/apo B ratio (Fig. 3a) and arylesterase (Fig. 3b) following the reduced-fat (RF), the n-3 reduced-fat (n-3RF) and normal-fat (NF) periods in volunteers classified according to initial LDL-cholesterol values, <3.36 mmol/L or ≥3.36 mmol/L. *p<0.05, low-normal LDL-cholesterol vs. high LDL-cholesterol values.

The rates of change in Lp(a) seem to be important as this lipoprotein-fraction has been found to be an independent risk factor of CVD⁽¹⁸⁾, tending to decrease in both LDL-cholesterol groups during the n-3RF-period but to increase in the NF-period. Although publications on dietary effects on plasma Lp(a) levels are scarce⁽¹⁹⁾, Shin *et al.*⁽²⁰⁾ reported that Lp(a) increases after a high-fat low-carbohydrate diet as compared to a low-fat high-carbohydrate diet. Furthermore, a slight increase in Lp(a) when replacing saturated fat with monounsaturated fat has been published (Berglund *et al.*⁽²¹⁾). In relation to the previous discussed parameters, Lp(a) has been suggested to be an important carrier of oxidized-phospholipids⁽²²⁾. The tendency for Lp(a) to decrease in those volunteers during the n-3RF-period may also have counterbalanced the modifications reported in the LDL fraction. Some differences were observed during the three intervention periods in the rates of change in volunteers with low-normal or high initial LDL-cholesterol levels. Both groups

responded similarly to the RF, while AE activities and HDL-cholesterol/apo A1 ratios increased in volunteers with high initial LDL-cholesterol, and apo A1/apo B and LDL-cholesterol/apo B ratios decreased after the n-3RF-period. These results, all together, suggest that these products could exert some double-edged effects. In fact, the observed decrease in the LDL-cholesterol/apo B ratio suggests the presence of smaller and more oxidized LDL⁽¹⁶⁾, while the HDL-cholesterol/apo A1 ratio suggests that the HDL particles were metabolically less active⁽²³⁾. Thus, the increased AE activity appears to be responsible for blocking, at least partially, the increased oxidability of LDL and HDL during this period, which was characterized by high n-3 fatty acid consumption. Finally, subjects with low-normal LDL-cholesterol levels were more negatively affected by the consumption of NF-products, as reflected by a greater increase in TC and the TC/LDL-cholesterol ratio.

Although results in some emergent CVD are significant, the study has some limitations: a) the daily amount of meat products to be consumed, although compatible with normal feeding, was relatively high; b) only two types of meat derivate, pâtés and frankfurters, were tested; c) the study focused on CVD markers; d) only males at CVD risk were studied, and e) a low number of volunteers were studied in both LDL-cholesterol groups. Nonetheless, the study has the strength of being the first to consider the response of several CVD markers and ratios in subjects at high risk of CVD differing in their LDL-cholesterol levels to pork-products formulated with an improved fat profile. The present publication also deals with the JONNPR objectives to inform about negative and inconclusive results⁽²⁴⁾.

Conclusions:

Differences in response between volunteers with low-normal vs. high initial LDL-cholesterol levels were evident in the n-3RF but not in the RF period. The relevant increase of AE, AE/HDL-cholesterol, AE/oxLDL in both LDL-cholesterol groups following the n-3RF-product and mainly in volunteers with ≥ 3.36 mmol/L LDL-cholesterol was a remarkable fact. Subjects with high LDL-cholesterol seem target for n-3RF products while subjects with LDL-cholesterol < 3.36 mmol/L were more negatively affected by that of NF-products. Any generalization about fat-improved functional meat-products consumption should be avoided as the effect is not equivalent for all major markers and appears related to LDL-cholesterol levels of the volunteers.

Acknowledgements:

This research was supported by the projects Consolider-Ingenio 2010: CARNISENUSA (CSD2007-00016) and AGL 2014-53207-C2-2R of Spanish Ministerio de Economía y Competitividad. We acknowledge volunteers participation and the statistical study assessment of Dra Laura Barrios from the Subdirección General de Apoyo a la Investigación (SGAI) of CSIC.

Conflict of interest:

None.

References

1. Celada P, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. To eat or not to eat meat. That is the question. *Nutr Hosp.* 2016;33:177-181.
2. Celada P, Sánchez-Muniz FJ. Are meat and meat product consumptions harmful? Their relationship with the risk of colorectal cancer and other degenerative diseases. *An Real Acad Farm.* 2016;82 (1):68-90.
3. AESAN ENIDE: Encuesta Nacional de Ingesta Dietética (2009-2010). Evaluación nutricional de la dieta española. I. Energía y macronutrientes, 2011, http://aesan.mssi.gob.es/AESAN/web/notas_prensa/presentacion_enide.shtml
4. Delgado-Pando G, Celada P, Sánchez-Muniz FJ, Jiménez-Colmenero F, Olmedilla-Alonso B. Effects of improved fat content of frankfurters and pâtés on lipid and lipoprotein profile of volunteers at increased cardiovascular risk: a placebo-controlled study. *Eur J Nutr.* 2014;53:83-93.
5. Celada P, Delgado-Pando G, Olmedilla-Alonso B, Jiménez-Colmenero F, Ruperto M, Sánchez-Muniz FJ. Impact of improved fat-meat products consumption on anthropometric markers and nutrient intakes of male volunteers at increased cardiovascular risk. *Nutr Hosp.* 2015;32(2):710-721.
6. Celada P, Sánchez-Muniz FJ, Delgado-Pando G, Bastida S, Espárrago-Rodilla M, Jiménez-Colmenero F, Olmedilla-Alonso B. Effects of improved fat meat products consumption on emergent cardiovascular disease markers of male volunteers at cardiovascular risk. *J Physiol Biochem.* 2016; (Published on line 4 July 2016) DOI 10.1007/s13105-016-0505-5.
7. Beynen AC, Katan MB, Zutphen LHM. Hypo and hyperresponses: individual differences in the response of serum cholesterol concentration to changes in diet. *Adv Lip Res.* 1987;22:115-171.
8. Cuesta C, Ródenas S, Merinero MC, Rodríguez-Gil S, Sánchez-Muniz FJ. Lipoprotein profiles and serum peroxide levels of aged women consuming palmolein or oleic acid-rich sunflower oil diets. *Eur J Clin Nutr.* 1998;52(9):675-683.

9. Sánchez-Muniz FJ, Maki KC, Shaefer EJ, Ordovás JM. Serum lipid and antioxidant responses in hypercholesterolemic men and women receiving plant sterol esters vary by apolipoprotein E genotype. *J Nutr.* 2009;139:1-7.
10. Mensink RP, Aro A, Den Hond E, German JB, Griffin BA, Meer HU, Mutanen M, Pannemans D, Stahl W. Diet-related cardiovascular disease. *Eur J Nutr.* 2003;42:1/6-1/27.
11. Delgado-Pando G, Cofrades S, Ruiz-Capillas C, Jiménez-Colmenero F. Healthier lipid combination as functional ingredient influencing sensory and technological properties of low-fat frankfurters. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2010;112: 59-870.
12. Delgado-Pando G, Cofrades S, Rodríguez-Salas L, Jiménez-Colmenero F. A healthier oil combination and konjac gel as functional ingredients in low-fat pork liver pâté. *Meat Sci.* 2011;88:241-248.
13. Nus M, Sánchez-Muniz FJ, Sánchez-Montero JM. A new method for the determination of arylesterase activity in human serum using simulated body fluid. *Atherosclerosis.* 2006;188:155-159.
14. Nus M, Frances F, Librelotto J, Canales A, Corella D, Sánchez-Montero JM, Sánchez-Muniz FJ. Arylesterase activity and antioxidant status depend on PON1-Q192R and PON1-L55M polymorphisms in subjects with increased risk of cardiovascular disease consuming walnut-enriched meat. *J Nutr.* 2007;137(7):1783-1788.
15. Palomaki A, Pohjantahti-Maaroos H, Wallenius M, Kankkunen P, Aro H, Husgafvel S, Pihlava JM, Oksanen K. Effects of dietary cold-pressed turnip rapeseed oil and butter on serum lipids, oxidized LDL and arterial elasticity in men with metabolic syndrome. *Lipids Health Dis.* 2010;9:137.
16. Carmena R. Dyslipidemia. In: Serrano-Ríos, Gutiérrez-Fuentes (eds). *Type 2 Diabetes Mellitus*. Amsterdam: Elsevier; 2010, pp. 219-230.
17. Harris WS, Miller M, Tighe AP, Davidson MH, Schaefer EJ. Omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk: clinical and mechanistic perspectives. *Atherosclerosis.* 2008;197:12-24.
18. Kurt B, Soufi M, Sattler A, Schaefer JR. The only established Lp(a) lowering treatment is the use of nicotinic acid, fibrates or performing LDL/Lp(a) apheresis Lipoprotein(a)-clinical aspects and future challenges. *Clin Res Cardiol.* 2015;Suppl;10:26-32.
19. Haring B, von Ballmoos MC, Appel LJ, Sacks FM. Healthy dietary interventions and lipoprotein (a) plasma levels: results from the Omni Heart Trial. *PLoS One.* 2014;9(12):e114859.
20. Shin MJ, Blanche PJ, Rawlings RS, Fernstrom HS, Krauss RM. Increased plasma concentrations of lipoprotein(a) during a low-fat, high-carbohydrate diet are associated with increased plasma concentrations of apolipoprotein C-III bound to apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:1527-1532.
21. Berglund L, Lefevre M, Ginsberg HN, Kris-Etherton PM, Elmer PJ, Stewart PW, Ershow A, Pearson TA, Dennis BH, Roheim PS, Ramakrishnan R, Reed R, Stewart K, Phillips KM. Comparison of monounsaturated fat with carbohydrates as a replacement for saturated fat in subjects with a high metabolic risk profile: studies in the fasting and postprandial states. *Am J Clin Nutr.* 2007;86:1611-1620.
22. Trpkovic A, Resanovic I, Stanimirovic J, Radak D, Mousa SA, Cenic-Milosevic D, Jevremovic DA, Isenovic, ER. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2015;52(2):70-85.
23. Bastida S, Perea S, Sánchez-Muniz FJ. Do neonates with high serum cholesterol levels have a different high density lipoprotein composition? *Eur J Pediatr.* 1998;157(1):66-70.
24. Culebras JM. Resultados negativos, cincuenta por ciento del conocimiento. *JONNPR.* 2016;1(1):1-2.