



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 361 007**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/74** (2006.01)  
**A61P 1/12** (2006.01)  
**A61P 1/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03741819 .1**  
96 Fecha de presentación : **20.05.2003**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1505989**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.02.2005**

54 Título: **Manipulación de la tasa de tránsito gastrointestinal al modular la concentración de metano intestinal.**

30 Prioridad: **20.05.2002 US 382172 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**13.06.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**13.06.2011**

73 Titular/es: **CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER**  
**8700 Beverly Boulevard**  
**Los Ángeles, California 90048-1865, US**

72 Inventor/es: **Pimentel, Mark y**  
**Lin, Henry C.**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 361 007 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Manipulación de la tasa de tránsito gastrointestinal al modular la concentración de metano intestinal

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Discusión de la Técnica Relacionada

- 5 El síndrome de intestino irritable (IBS) es un trastorno gastrointestinal común visto en más del 15% de la población (1,2).

10 Durante los últimos años, se ha habido un progreso en la caracterización del síndrome de intestino irritable (IBS). Los estudios han demostrado motilidad alterada del intestino (3), disfunción sensorial periférica (4) y central (5), así como también una respuesta exagerada a la tensión (6) en este síndrome. Sin embargo, no hay hallazgo que se pueda identificar en la mayoría de pacientes y por extensión, no hay prueba diagnóstica que se asocie con IBS. Como un resultado, los investigadores han creado un esquema diagnóstico complejo tal como los criterios de Roma para ayudar a diagnosticar y categorizar el síndrome (7,8).

15 Un hallazgo clínico consistente en IBS es el gas en combinación con hinchazón y distensión visible (9,10). Koide et al. encontraron recientemente que el gas del intestino delgado se ha incrementado significativamente en IBS comparado con controles (11) independiente de si los sujetos conforman subgrupos con diarrea, estreñimiento o dolor.

20 El gas excesivo en el intestino delgado puede ocurrir como un resultado de la producción incrementada de gas dentro del intestino mediante fermentación bacteriana. El hidrógeno y el metano son gases comunes excretados durante la prueba de aliento (43). Aunque la producción de hidrógeno parece más ubicua, la producción de metano se ve en 36-50% de los sujetos saludables (27, 41, 42). En particular, se observa que el metano es común en diverticulosis (25), y es menos prevalente en afecciones diarreicas tal como colitis de Crohn o colitis ulcerativa (26-28). Los datos recientes sugieren que los niños con encopresis tienen excesivo aliento a metano en la prueba de aliento de lactulosa ("LBT"; 13). Este hallazgo no se ha extendido a los adultos con estreñimiento-IBS predominante.

25 Una afección conocida por producir gas del intestino delgado excesivo es crecimiento ascendente bacteriano del intestino delgado (SIBO). El crecimiento ascendente bacteriano del intestino delgado es una afección en la que el intestino delgado se coloniza mediante cantidades excesivas de la flora del tubo gastrointestinal superior o inferior. Aunque existen muchas afecciones asociadas con SIBO, los estudios recientes han demostrado una prevalencia incrementada de SIBO en el síndrome de intestino irritable (IBS) (12) y esta es una causa reconocida de diarrea en la enfermedad inflamatoria del intestino (IBD) (28, 39, 40).

30 Existe algún soporte para la asociación entre los resultados de prueba de aliento alterados y la flora entérica en IBS. En un estudio, se encuentra que el 56% de los sujetos IBS predominantes con diarrea tienen una prueba de aliento de <sup>13</sup>C-xilosa positiva (20). En otro estudio, se reporta que el flagil es superior al placebo ya que reduce los síntomas clínicos en IBS (21). Los autores en ese documento tienen incertidumbre sobre el mecanismo para este mejoramiento.

35 Un método para diagnosticar SIBO es la prueba de aliento de lactulosa (LBT) en donde se considera que el sobrecrecimiento ascendente está presente si se observa un incremento de más de 20 ppm en la concentración de hidrógeno o metano en aliento dentro de los 90 minutos luego de la administración oral de la lactulosa (19).

40 En un estudio reciente, sugerimos que un gran porcentaje (78%) de sujetos IBS tienen SIBO cuando se diagnostican por la prueba de aliento de lactulosa (12). Algunos trabajadores critican la confiabilidad del LBT para diagnosticar SIBO debido a que en la identificación del proceso infeccioso, el cultivo es el estándar dorado. El hecho principal con el cultivo es la accesibilidad. Riordan, et al. compara la prueba de aliento para dirigir el cultivo y encontrar que la prueba de aliento carece de confiabilidad (29). Este y otros estudios similares se confunden por su selección de sujetos quienes tienen predisposición anatómica quirúrgicamente alterada para el desarrollo del tubo GI superior. SIBO. Debido a que el SIBO (en pacientes quirúrgicamente neófitos) es frecuentemente una expansión de bacterias colónicas, la dirección de la expansión es retrógrada involucrando primero el intestino delgado distal. Como tal, el cultivo directo es solo práctico en el paciente cuyo SIBO es muy severo que las bacterias se han expandido próximamente dentro del duodeno o yeyuno próximo.

50 Independientemente de algún escepticismo acerca de la confiabilidad de LBT para diagnosticar SIBO, existen similitudes entre SIBO e IBS. La inflamación, una característica de SIBO, también se asocia al clásicamente con IBS (10). En el SIBO, la inflamación se debe a la fermentación de los nutrientes en el intestino delgado. Recientemente, los estudios de gas en IBS se han limitado a la investigación de flatulencias. Aún, todavía estos estudios sugieren la

presencia de bacterias excesivas en IBS. King, et al encuentran que la producción de hidrógeno por sujetos IBS es cinco veces más elevada lo que implica bacterias entéricas excesivas (22). Recientemente, los datos sugieren que los pacientes IBS tienen gas excesivo y que este gas se localiza en el intestino delgado (11). Sin embargo, los subgrupos predominantes de diarrea en contraste y estreñimiento en IBS permanecen sin explicación.

- 5 La velocidad del tránsito a través del intestino delgado se regula normalmente mediante los mecanismos inhibidores ubicados en el intestino delgado distal y próximo conocidos como válvula yeyúnica y el válvula ileal. La retroalimentación inhibitoria se activa para retrasar el tránsito cuando la digestión de los productos finales hace contacto con sensores de nutrientes del intestino delgado, (Por ejemplo, Lin, H.C., Patente Estadounidense No. 5,977,175; Dobson, C. L. et al., The effect of oleic acid on the human ileal brake and its implications for small  
10 intestinal transit of tablet formulations, Pharm. Res. 16(1):92-96 [1999]; Lin, H. C. et al., Intestinal transit is more potently inhibited by fat in the distal (Ileal brake) than in the proximal (jejunal brake) gut, Dig. Dis. Sci. 42(1):19-25 [1997]; Lin, H.C. et al., Jejunal brake: inhibition of intestinal transit by fat in the proximal small intestine, Dig. Dis. Sci, 41(2):326-29 [1996a]).

Nunca antes se ha reportado metano en el lumen intestinal que afecte la tasa de tránsito gastrointestinal.

- 15 La GB 423 083 se relaciona con el uso de Saccharomyces para tratar el estreñimiento. La GB 2 338 244 se relaciona con Lactobacilos y Bifidobacterias para tratar la diarrea y el estreñimiento. La JP 08 310960 se relaciona con Lactobacillus como un purgante. La EP 1 609 852 describe Bifidobacterias para tratar el estreñimiento. La JP 60 133852 describe fructo-oligosacáridos para tratar el estreñimiento.

#### RESUMEN DE LA INVENCION

- 20 Un primer aspecto de la invención proporciona un inhibidor selectivo de metanogenia, seleccionado de monensina y un inhibidor reductasa HMG-CoA, para uso en el tratamiento del estreñimiento.

- Un aspecto adicional de la invención proporciona un agente que comprende metano o un precursor de metano que provoca la presión parcial de metano en el intestino de un sujeto que se trata para que sea incrementado para uso en el tratamiento de la diarrea. Una realización de este aspecto de la invención es en donde el agente es un  
25 precursor de metano que comprende un catalizador y sustrato químico que origina la presión parcial del metano en el intestino de un sujeto que se va a tratar para que se incremente.

- La presente invención se relaciona con un método para manipular la tasa de tránsito gastrointestinal en un sujeto mamífero, que incluye un paciente humano. El método involucra: (a) incrementar la tasa de tránsito gastrointestinal al provocar la presión parcial del metano en el intestino del sujeto que se va a reducir; y (b) reducir la tasa de tránsito  
30 gastrointestinal al provocar la presión parcial del metano en el intestino del sujeto, por ejemplo en el intestino distal, que se va a incrementar.

- Así, al practicar el método de la invención para aumentar la tasa de tránsito gastrointestinal, estreñimiento y trastornos que presentan estreñimiento se pueden tratar en sujetos en quienes los niveles de metano intestinal anormalmente elevados son detectables (por ejemplo, en casos de estreñimiento-síndrome de intestino irritable  
35 predominante [IBS], pseudoobstrucción, inercia colónica, ileo postoperativo, encopresis, afección hepática, estreñimiento inducido por medicación o encefalopatía). De acuerdo con esta descripción, la presión parcial del metano en el intestino del sujeto se puede reducir al administrar al lumen intestinal del sujeto un inhibidor selectivo de metanogenia, tal como monensina, o un agente probiótico que desplaza el metanógeno, o un agente prebiótico que inhibe el crecimiento de bacterias metanogénicas o promueve el crecimiento de la flora intestinal no  
40 metanogénica competente.

Posteriormente, también describimos el uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del estreñimiento, de un inhibidor selectivo de metanogenia, o de un agente probiótico que desplaza el metanógeno, o de un agente prebiótico que inhibe el crecimiento de bacterias metanogénicas o promueve el crecimiento de la flora intestinal no metanogénica competente.

- 45 Y alternativamente, al practicar el método de la invención para reducir la tasa de tránsito gastrointestinal, se pueden tratar los pacientes con diarrea y trastornos que presentan diarrea (por ejemplo, casos de diarrea-IBS predominante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, enfermedad celiaca, colitis microscópica, síndrome de evacuación gástrica rápida, tránsito rápido, síndrome de intestino delgado, síndrome post-gastrectomía, diarrea diabética, hiperémesis, o diarrea asociada con antibiótico). De acuerdo con esta descripción, la presión parcial del metano en el intestino del  
50 sujeto se puede incrementar al administrar gas metano al lumen intestinal del sujeto, por ejemplo en el segmento distal del intestino del sujeto, o al administrar al sujeto un agente probiótico metanogénico o agente probiótico que mejora la metanogenia.

Posteriormente, también describimos el uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de diarrea, de metano o un precursor de metano, o de un agente prebiótico metanogénico u otro agente prebiótico que mejora el metano, o de un agente prebiótico que mejora la metanogenia.

5 Se describirán más completamente estas y otras ventajas y características de la presente invención en una descripción detallada de las realizaciones preferidas que siguen.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

10 La Figura 1 muestra un diagrama de flujo del paciente para un estudio controlado por placebo doble ciego que confirma que una prueba de aliento anormal de lactulosa es más prevalente en IBS que los controles normales, y que el tratamiento antibiótico en IBS que conduce a una mejora en los síntomas y que se basa en la normalización inducida por antibiótico de la prueba de aliento.

15 La Figura 2 muestra el porcentaje de mejoramiento en la clasificación compuesta con base en el tratamiento y éxito en normalizar el LHBT. Datos = % de reducción medio en clasificación compuesta; la diferencia en la clasificación compuesta es significativa ( $p < 0.01$ , ANOVA de 1 vía). La diferencia en la mejora reportada del paciente también es significativa ( $p < 0.000001$ , ANOVA de una vía). En los grupos tratados con neomicina, se analizan los datos de acuerdo con el éxito del tratamiento. Neo=Neomicina.

La Figura 3 muestra una comparación del porcentaje reportado de la normalización del intestino entre y dentro de los grupos de género; NS = no significativo.

La Figura 4 muestra el patrón de la producción de gas con el tipo de síntoma IBS, es decir, estreñimiento-IBS predominante (barras no sombreadas;  $p < 0.00001$ ) versus diarrea-IBS predominante (barras sombreadas;  $p < 0.001$ ).

20 La Figura 5 muestra el patrón de producción de gas en pacientes IBS ( $n = 65$ ) con respecto a la severidad del síntoma en aquellos con estreñimiento-IBS predominante (barras no sombreadas;  $p < 0.00001$ ) versus aquellas con diarrea-IBS predominante (barras sombreadas;  $p < 0.00001$ ).

La Figura 6 ilustra el efecto en el tránsito intestinal en perros administrados con 180 ml de aire ambiente (círculos) o gas metano (cuadrados) mediante suministro por bolo al intestino distal. Metano de tránsito intestinal más lento.

25 La Figura 7 muestra la clasificación de severidad de diarrea y estreñimiento media de todos los sujetos ( $n=551$ ) con SIBO como una función del tipo de patrón de gas producido en LBT;  $p < 0.00001$  para tendencia en la reducción de la diarrea con la presencia de metano (ANOVA de 1 vía);  $p < 0.05$  para la tendencia hacia el aumento del estreñimiento con la presencia de metano (ANOVA de 1 vía).

30 La Figura 8 muestra las clasificaciones de severidad de diarrea y estreñimiento media de los sujetos IBS ( $n=296$ ) con SIBO como una función del tipo del patrón de gas producido en LBT;  $p < 0.001$  para tendencia en la reducción de la diarrea con la presencia de metano (ANOVA de 1 vía);  $p < 0.05$  para la tendencia hacia el aumento del estreñimiento con la presencia de metano (ANOVA de 1 vía).

35 La Figura 9 muestra la clasificación de severidad de estreñimiento media menos diarrea (C-D) para el grupo completo ( $n=551$ ) y los sujetos IBS ( $n=296$ ) como una función del tipo de patrón de gas producido en LBT;  $p < 0,00001$  para tendencia en C-D para el grupo completo (ANOVA de una vía);  $p < 0.0001$  para tendencia en C-D para los sujetos IBS (ANOVA de una vía).

La Figura 10 muestra el porcentaje de sujetos IBS ( $n = 296$ ) que exhibe cada patrón de gas quienes reportan síntomas predominantes de estreñimiento vs. diarrea.

40 La Figura 11 muestra el porcentaje de sujetos con IBD quienes producen cada uno de los tres patrones de gas anormales en LBT.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

Un primer aspecto de la invención proporciona un inhibidor selectivo de metanogenia, seleccionado de monensina y un inhibidor de reductasa HMG-CoA, para uso en el tratamiento del estreñimiento.

45 Un aspecto adicional de la invención proporciona un agente que comprende metano o un precursor de metano que origina la presión parcial del metano en el intestino de un sujeto que se ha tratado para que se incremente para uso en el tratamiento de la diarrea. Una realización de este aspecto de la invención es donde el agente es un precursor

de metano que comprende un catalizador y sustrato químico que origina la presión parcial del metano en el intestino de un sujeto que se ha tratado para que se incremente.

De acuerdo con el uso de la invención reivindicada, la presión parcial del metano en el intestino del sujeto se puede reducir al administrar al lumen intestinal del sujeto un inhibidor selectivo de metanogenia, tal como monensina. Los inhibidores selectivos útiles de metanogenia incluyen los inhibidores de reductasa HMG-CoA conocidos en la técnica (por ejemplo, Patente Estadounidense No. 5,985,907) que inhiben selectivamente el crecimiento de bacterias metanogénicas sin inhibir significativamente el crecimiento de no metanógenos, por ejemplo en el intestino distal o colon del sujeto.

Alternativamente, la presión parcial del metano en el intestino del sujeto se puede reducir al administrar al lumen intestinal del sujeto al agente probiótico que desplaza el metanógeno para inhibir el crecimiento de bacterias metanogénicas allí, por ejemplo, un inóculo de una bacteria de ácido láctico, bifidobacteria, o especies de *Saccharomyces* probióticas, por ejemplo, *S. cerevisiae*. (AS. Naidu et al., Probiotic spectra of lactic acid bacteria, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 39(1):13-126 [1999]; J.A. Vanderhoof et al. [1998]; G.W. Tannock, Probiotic properties of lactic acid bacteria: plenty of scope for R. & D, *Trends Biotechnol.* 15(7):270-74 [1997]; S. Salminen et al., Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges, *Antonie Van Leeuwenhoek* 70(2-4):347-58 [1997]; Chaucheyras F. et al., In vitro H<sub>2</sub> utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*, *Appl Environ Microbiol* 61(9):3466-7 [1995]). El inóculo se administra típicamente en una formulación ingerible farmacéuticamente aceptable, tal como en una cápsula, o para algunos sujetos, es efectivo consumiendo un alimento complementado con el inóculo, por ejemplo leche, yogurt, queso, carne u otra preparación alimenticia fermentable. Los agentes probióticos útiles incluyen *Bifidobacterium* sp. o especies o cepas *Lactobacillus*, por ejemplo, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, o *L. casei* Shirota, (P. Kontula et al., The effect of lactose derivatives on intestinal lactic acid bacteria, *J. Dairy Sci.* 82(2):249-56 [1999]; M. Alander et al., The effect of probiotic strains on the microbiota of the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME). *Int. J. Food Microbiol* 46(1):71-79 [1999]; S. Spanhaak et al., the effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans, *Eur. J. Clin. Nutr.* 52(12):899-907 [1998]; W.P. Charteris et al., Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species, *J. Food Prot.* 61(12):1636-43 [1998]; B.W. Wolf et al., Safety and tolerance of *Lactobacillus reuteri* supplementation to a population infected with the human immunodeficiency virus, *Food Chem. Toxicol.* 36(12):1085-94 [1998]; G. Gardiner et al., Development of a probiotic cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains, *Appl. Environ. Microbiol.* 64(6):2192-99 [1998]; T. Sameshima et al., Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage, *Int. J. Food Microbiol* 41(1):1-7 [1998]).

Alternativamente, la presión parcial del metano en el intestino del sujeto se puede reducir al administrar al lumen intestinal del sujeto al agente probiótico que inhibe el crecimiento de bacterias metanogénicas o promueve el crecimiento de la flora intestinal no metanogénica competente. (Por ejemplo, Tuohy KM et al., The prebiotic effects of biscuits containing partially hydrolysed guar gum and fructo-oligosaccharides-a human volunteer study, *Br J Nutr* 86(3):341-8 [2001]).

De acuerdo con el uso de la invención reivindicada, la presión parcial del metano en el intestino del sujeto se puede incrementar al administrar metano al lumen intestinal del sujeto. De acuerdo con lo anterior, se puede administrar metano directamente al intestino a través de un tubo, preferiblemente por medio del recto, pero también son útiles otras rutas de acceso para la intubación al intestino. Alternativamente, se puede administrar metano al lumen intestinal al proporcionar un medicamento que comprende un catalizador y sustrato químico (es decir, un "precursor de metano") al lumen intestinal, en donde ellos entran en contacto para producir metano in situ. Por ejemplo, el catalizador y el sustrato se pueden administrar en comprimidos de liberación controlada separados, que liberan sus contenidos en la ubicación deseada en el intestino.

Alternativamente, la presión parcial del metano en el intestino del sujeto se puede incrementar al administrar al lumen intestinal del sujeto el agente probiótico que mejora el metano. Un agente probiótico "que mejora el metano" es uno que mejora efectivamente la presión parcial del metano en el lumen intestinal del sujeto. El agente probiótico que mejora el metano puede ser una bacteria metanogénica, tal como *Methanobrevibacter smithii*, o ciertos *Bacteroides* spp, o *Clostridium* spp. (Ver, por ejemplo, McKay LF et al., Methane and hydrogen production by human intestinal anaerobic bacteria, *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [B]* 90(3):257-60 [1982]), o un organismo que puede mejorar el crecimiento de metanógenos intestinales, tal como *Clostridium butyricum*.

Alternativamente, se puede incrementar la presión parcial del metano en el intestino del sujeto al administrar al lumen intestinal del sujeto un agente probiótico que mejora el crecimiento de bacterias metanogénicas.

Como el término se utiliza comúnmente en la técnica, el segmento "próximo" del intestino delgado, o "intestino proximal", comprende aproximadamente la primer mitad del intestino delgado del píloro a la parte media del

intestino. El segmento distal, o "intestino distal" incluye aproximadamente la segunda mitad, del intestino medio a la válvula ileocecal.

Los métodos representativos para administración incluyen dar, proporcionar, alimentar o alimentar a la fuerza, dispensar, insertar, inyectar, infundir, perfundir, prescribir, presentar, tratar con, tomar, ingerir, tragar, comer o aplicar. La administración de inhibidores, agentes probióticos, o agentes prebióticos, es mediante medios bien conocidos, que incluyen más preferiblemente administración oral y/o administración entérica.

La detección del metano intestinal y otros gases, aunque no es esencial para la práctica de la invención, se puede llevar a cabo, si se desea, mediante cualquier medio adecuado o métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, un método preferido es la prueba de aliento. (Por ejemplo, P. Kerlin y L. Wong, Breath hydrogen testing in bacterial overgrowth of the small intestine, *Gastroenterol.* 95(4):982-88 [1988]; A. Strocchi et al., Detection of malabsorption of low doses of carbohydrate: accuracy of various breath H<sub>2</sub> criteria, *Gastroenterol.* 105(5):1404-1410 [1993]; D. de Boissieu et al., [1996]; P.J. Lewindon et al., Bowel dysfunction in cystic fibrosis: importance of breath testing, *J. Paediatr. Child Health* 34(1):79-82 [1998]). Las pruebas de hidrógeno en aliento o de metano en aliento se hacen con base en el hecho de que muchas bacterias facultativamente u obligatoriamente fermentativas encontradas en el tubo gastrointestinal producen cantidades detectables de gas de hidrógeno o metano como productos de fermentación de un sustrato consumido por el anfitrión, bajo ciertas circunstancias. Los sustratos incluyen azúcares tal como lactulosa, xilosa, lactosa, sacarosa, o glucosa. El hidrógeno o metano producido en el intestino delgado que ingresa a el torrente sanguíneo del anfitrión y se exhalan gradualmente.

Típicamente, después del ayuno durante la noche, el paciente traga una cantidad controlada de un azúcar, tal como lactulosa, xilosa, lactosa, o glucosa, y se toman muestras de aliento en intervalos de tiempo frecuentes, típicamente cada 10 a 15 minutos durante un periodo de cuatro horas. Las muestras se analizan mediante cromatografía de gas o mediante cualesquier otras técnicas adecuadas, solas o en combinación. Una fracción variable de la población falla en exhalar el gas de hidrógeno apreciable durante la fermentación intestinal de la lactulosa; la microflora intestinal de estos individuos en su lugar produce más metano. (G. Corazza et al., Prevalence and consistency of low breath H<sub>2</sub> excretion following lactulose ingestion. Possible implications for the clinical use of the H<sub>2</sub> breath test, *Dig. Dis. Sci.* 38(11):2010-16 [1993]; S. M. Riordan et al., The lactulose breath hydrogen test y small intestinal bacterial overgrowth, *Am. J. Gastroenterol.* 91(9):1795-1803 [1996]). Opcionalmente se puede utilizar el sustrato no digerible diferente a la lactulosa.

Otro método útil para detectar los gases intestinales, tal como metano, es mediante cromatografía de gas con espectrometría de masa y/o detección de radiación para medir las emisiones de dióxido de carbono marcado con isótopo, metano, o hidrógeno, después de administrar un sustrato marcado isótopo que es metabolizable mediante bacterias gastrointestinales pero pobremente digerible mediante el anfitrión humano, tal como lactulosa, xilosa, manitol, o urea. (Por ejemplo, G.R. Swart and J.W. van den Berg, <sup>13</sup>C breath test in gastrointestinal practice, *Scand. J. Gastroenterol.* [Suppl.] 225:13-18 [1998]; S.F. Dellert et al., The <sup>13</sup>C-xylose breath test for the diagnosis of small bowel bacterial overgrowth in children, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 25(2):153-58 [1997]; C.E. King y P.P. Toskes, Breath tests in the diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth, *Crit. Rev. Lab. Sci.* 21(3):269-81 (1984)). Un sustrato pobremente digerible es uno para el cual existe una carencia relativa o absoluta de la capacidad en un humano para su absorción o para la degradación enzimática o su catabolismo.

Las marcas isotópicas adecuadas incluyen <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C. Para medir el metano o el dióxido de carbono, las marcas isotópicas adecuadas también pueden incluir <sup>2</sup>H y <sup>3</sup>H o <sup>17</sup>O y <sup>18</sup>O, mientras que el sustrato se sintetiza con la marca isotópica puesta en una ubicación metabólicamente adecuada en la estructura del sustrato, es decir, una ubicación en donde la biodegradación enzimática mediante la microflora intestinal resulta en la marca isotópica que se secuestra en el producto gaseoso. Si la marca isotópica seleccionada es un radioisótopo, tal como <sup>14</sup>C, <sup>3</sup>H, o <sup>15</sup>O, se pueden analizar muestras de aliento mediante cromatografía de gas con medios de detección de radiación adecuados (Por ejemplo, C.S. Chang et al., Increased accuracy of the carbon-14 D-xylose breath test in detecting small intestinal bacterial overgrowth by correction with the gastric emptying rate, *Eur. J. Nucl. Med.* 22(10):1118-22 [1995]; C.E. King y P.P. Toskes, Comparison of the 1-gram [<sup>14</sup>C]xylose, 10-gram lactulose-H<sub>2</sub>, y 80-gram glucose-H<sub>2</sub> breath tests in patients with small intestine bacterial overgrowth, *Gastroenterol.* 91(6):1447-51 [1986]; A. Schneider et al., Value of the <sup>14</sup>C-D-xylose breath test in patients with intestinal/ bacterial overgrowth, *Digestion.* 32(2):86-91 [1985]).

La invención ahora se describirá en más detalle con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

**EJEMPLOS****Ejemplo 1. Excreción de metano en prueba de aliento tiene un valor predictivo positivo de 100% para estreñimiento-IBS predominante.**

5 En un estudio controlado por placebo, aleatorio, doble ciego, confirmamos que una prueba de aliento de lactulosa anormal es más prevalente en IBS que los controles normales, y que el tratamiento antibiótico en IBS conduce a un mejoramiento en los síntomas y que éste se basa en la normalización inducida por antibiótico de la prueba de aliento. Segundo, los perfiles de prueba de aliento de lactulosa se evalúan por mostrar que los constituyentes gaseosos varían entre los subgrupos IBS. En este estudio, mostramos que la excreción de metano en la prueba de aliento tiene un valor predictivo positivo de 100% para estreñimiento IBS predominante. Esta es otra etapa importante en el ligado de SIBO y IBS.

**A. Materiales y Métodos****Población de estudio**

15 Los sujetos de estudio se vinculan mediante anuncios en los periódicos locales, radio y grupos de soporte IBS a través de la mayor parte del área de Los Ángeles. Para evitar el sesgo de referencia, los sujetos no se vinculan a través de la motilidad clínica de GI o cualquier práctica gastroenterológica con base en el Centro Médico Cedars-Sinai. Se incluyen sujetos si ellos cumplen con los criterios Roma I para IBS (7). El Roma I se selecciona cuando éste no diferencia entre la diarrea y estreñimiento, y no están disponibles publicaciones de revisión por pares para validar el Roma II como una estrategia de diagnóstico (14). Los sujetos se excluyen si ellos tienen antibióticos dentro de los tres meses previos, una prueba de aliento de lactulosa previa (LBT), o una historia de diabetes, enfermedad de tiroides, cirugía intestinal (excepto colecistectomía o apendectomía), enfermedad de tejido conector, uso narcótico o enfermedad gastrointestinal conocida. También se excluyen sujetos con insuficiencia renal, deterioro cardiaco, uso probiótico o alergia para las aminoglicosidas. Se obtiene la aprobación de la junta de revisión institucional y consentimiento escrito informado de los sujetos participantes.

25 En una comparación inicial, se identifican 15 controles normales equiparados por sexo con base en la ausencia de todos los criterios Roma I. Estos sujetos experimentaron la prueba de aliento de lactulosa y la prevalencia de prueba de aliento anormal se compara con sujetos con IBS.

**Diseño del estudio**

30 Los sujetos presentados al Laboratorio de Motilidad GI tienen ayuno de 7:00 p.m. de la noche anterior. Ellos no se instruyen para ingerir legumbres o una comida pesada para la cena de la noche antes de evaluación. Se recomienda la buena higiene oral y no se permite fumar en el día de la prueba.

Antes del LBT, los sujetos completan un cuestionario de síntomas que les pregunta el grado de nueve síntomas IBS (dolor abdominal, diarrea, estreñimiento, inflamación, sentido de evacuación incompleta, esfuerzo de defecación, tenesmo rectal, moco y gas) en una clasificación de severidad de 0-5 como se ha utilizado y recomendado previamente (15-17). Todas las preguntas se hacen con base en su recuerdo de los 7 días precedentes (17).

35 Los sujetos luego experimentaron un LBT al ingerir 10g de lactulosa (Inalco Spa, Milano, Italia, empacado por Xactdose Inc., South Beloit, IL) seguido por 1-2 onzas de agua después de una muestra de aliento de valores iniciales inicial. Las muestras de aliento luego se recolectan en intervalos de 15 minutos durante 180 minutos. Se toman muestras de aliento espiratorias finales para asegurar la muestra de gas alveolar. Las muestras se analizan para hidrógeno, metano y dióxido de carbono utilizando una cromatografía de gas Quintron Modelo SC (Quintron Instrument Company, Milwaukee, WI). Se utilizan mediciones de dióxido de carbono para corregir la calidad de la muestra alveolar. Las mediciones se dibujan gráficamente como se describió previamente (12). Los pacientes e investigadores fueron cegados para el resultado de la prueba de aliento.

45 Todos los sujetos se aleatorizan por el personal no asociado con el estudio para recibir, en una forma de doble ciego, neomicina (500 mg) (Teva pharmaceuticals, USA, Sellersville, PA) o placebo para equiparación dos veces diariamente durante 10 días. Siete días después de la terminación del antibiótico o placebo, los sujetos regresan para un cuestionario repetido y LBT. Se selecciona un día de los siete días siguientes debido a que en nuestra experiencia la prueba de aliento anormal en IBS puede recurrir tan pronto como dos semanas después de la normalización del antibiótico. Como parte del siguiente cuestionario, a los sujetos se les solicita que clasifiquen subjetivamente la cantidad de mejora que ellos experimentan como un porcentaje de normalización de la función del intestino y repite su severidad percibida de los 9 síntomas del intestino descritos anteriormente. Se evalúa el cumplimiento mediante conteo de píldoras. Para cumplir con los requerimientos de la junta de revisión institucional,

los resultados del seguimiento LBT no se pueden cegar de tal manera que los pacientes pueden buscar terapia médica apropiada para su resultado de prueba.

5 En la terminación de vinculación, se codifican y se aleatorizan todas las pruebas de aliento iniciales y posteriores por el personal no involucrado en la interpretación de la prueba. Un revisor cegado (M.P.) interpreta los resultados y se cuestiona para categorizar las pruebas de aliento con base en si la prueba cumple los criterios para LBT normal. Se define un LBT normal, sin aumento de la concentración de hidrógeno (H<sub>2</sub>) o metano (CH<sub>4</sub>) en aliento antes de 90 minutos de lactulosa, con un incremento definitivo de más de 20 ppm durante 180 minutos de medición (18, 19, 37, 38). Los estudios que escapan de este rango se categorizan como anormales. Se requiere un segundo conjunto de criterios para la interpretación de la prueba de aliento también utiliza por lo tanto los 2 picos tradicionales para sugerir el sobrecrecimiento bacteriano. Debido a que el método de dos picos no es tan bueno como el que valida una técnica (37) como las partes por millón (ppm), estos hallazgos solo se utilizan para comparar la prevalencia de este hallazgo para controles saludables.

#### Mediciones del Resultado

15 Se analizan datos utilizando un método de intención de tratamiento. La medición del resultado primario se basa en una clasificación compuesta (CS) calculada de los 3 síntomas principales IBS (dolor abdominal, diarrea y estreñimiento cada uno en una escala de 0-5) para generar una clasificación de 15 (más severo). Esto se hace para contar la severidad de todos los subgrupos potenciales IBS. Debido a que otros síntomas IBS (tal como esfuerzo de defecación) mejorarían o empeorarían dependiendo de si los pacientes inician con diarrea o estreñimiento, respectivamente, no se incluyen criterios menores en el CS. Adicionalmente, como la reducción en los organismos colónicos puede resultar en un mejoramiento en el gas e inflamación, independiente del crecimiento ascendente bacteriano, los síntomas muy gaseosos se excluyen de la clasificación. Después se compara el porcentaje de mejoramiento en el CS entre placebo y neomicina. Adicionalmente, se determina el porcentaje general de normalización del intestino según el reporte del paciente y se compara de forma similar.

25 La prevalencia de una respuesta clínica verdadera luego se determina y se compara entre el placebo y neomicina. Una respuesta clínica verdadera se define como una reducción del  $\geq 50\%$  en CS. Secundariamente, una respuesta clínica verdadera también se evalúa con base en los sujetos que reportan su porcentaje general de normalización del intestino. Una normalización del  $\geq 50\%$  implica una respuesta clínica verdadera. Este método de análisis sigue cercanamente el consensus multinacional que recomienda las directrices para el análisis de datos en los estudios clínicos IBS (16).

30 Los puntos finales secundarios incluyen un análisis similar de los subgrupos de género. Posteriormente, se identifican los subgrupos IBS por lo que la diarrea IBS predominante se considera presente cuando la severidad de la diarrea (escala de 0-5) es mayor que el estreñimiento en cualquier sujeto individual. La proporción opuesta determina la predominancia al estreñimiento. Estos medios de identificación de los subgrupos de diarrea y estreñimiento predominantes se seleccionan debido a que los criterios para estos subgrupos no se validan y se basan subjetivamente en la entrevista con el médico (14). Este método reduce adicionalmente el sesgo debido a que los sujetos no estarían conscientes del interés en su característica predominante del subgrupo.

40 Luego se conduce un análisis post hoc en todos los resultados de prueba de aliento anormales para determinar si el tipo de gas producido en LBT se relaciona con el subgrupo IBS. Se dividen las pruebas de aliento anormales en dos grupos de prueba anormales: solo producción de hidrógeno y cualquier producción de metano. Se determina la relación entre el estreñimiento IBS predominante y diarrea IBS predominante para el tipo de gas visto. Posteriormente, en una forma más objetiva, la clasificación de severidad para la diarrea y estreñimiento luego se compara entre los tipos de gas. Finalmente, se determina una clasificación con base en la diferencia entre la severidad de estreñimiento y diarrea (es decir, clasificación de estreñimiento menos clasificación de diarrea; "C-D"). El C-D se utiliza para examinar el peso relativo de estreñimiento a diarrea en los sujetos individuales (las clasificación más positiva de mayor dominio de estreñimiento se compara con diarrea). Los sujetos con clasificación idéntica por severidad de estreñimiento y diarrea se excluyen de estos análisis. Esta clasificación C-D también se compara con los tipos de gas.

50 Finalmente, para soportar la prueba principal que la anormal en IBS no se debe al tránsito rápido, se compara el perfil de prueba de aliento medio en estreñimiento y diarrea IBS predominante. Debido a que se sugiere en la literatura que la diarrea IBS predominante se asocia con el tránsito rápido (34-36) y el estreñimiento IBS predominante con el tránsito lento (34, 35), el perfil de hidrógeno debe ser diferente en ambos grupos.

#### Análisis estadístico

55 El número de sujetos vinculados en el estudio se determina con base en la detección de 10% de diferencia entre placebo y neomicina. Esto asume adicionalmente una varianza de 15% y un  $\alpha=0.05$  con potencia de 90% en un análisis de 2 lados.

5 Se comparan los datos cuantitativos utilizando la prueba t de Student con resultados expresados como D.E media. Las comparaciones de los datos cualitativos utilizan Prueba Exacta de Fisher para la comparación de los sujetos IBS con controles saludables. Todas las otras comparaciones de los datos cualitativos utilizan Chi-cuadrado. Se utiliza un ANOVA de 1 vía para comparar los resultados de los 3 grupos: placebo tratado, neomicina con normalización no exitosa de LBT y neomicina tratada con normalización exitosa de LBT.

## B. Resultados

### Demografías de los sujetos

10 Se detectan doscientos treinta y un sujetos (Figura 1). De estos, 111 cumplen los criterios de involucramiento. Sin embargo, 10 de estos 111 sujetos tienen datos incompletos (6 en el grupo de neomicina y 4 en el grupo de placebo). Las razones específicas para los datos incompletos son, retiro prematuro voluntario (n=3), no sigue la prueba de aliento (n=4), falla en mostrarse para seguimiento (n=1), no siguen el cuestionario (n=1) y retiro prematuro por el sujeto debido a diarrea severa (n=1). A pesar de los datos incompletos, estos sujetos se incluyen en el análisis de intención de tratamiento y ellos se cuentan como sin mejora (0%). Las características de valores iniciales son similares para los grupos de neomicina y placebo (Tabla 1, adelante).

15 Tabla 1. Comparación de demográficos entre placebo y neomicina.

Característica	Placebo	Neomicina	Valor p
N	56	55	
Edad	41.9±0.2	44.7±0.2	NS
Sexo (F/M)	27/29	34/21	NS
Clasificación compuesta de valores iniciales	8.7±0.4	8.8±0.3	NS
Prueba de aliento anormal [n (%)]	47 (84)	46 (84)	NS
Diarrea IBS predominante [n (%)]	21(40)>	25 (48)*	NS
Estreñimiento IBS predominante [n (%)]	20(38)>	18 (35)*	NS
Otro subgrupo IBS [n (%)]	11 (21) >	7 (13)*	NS

Los datos son valores iniciales de media ± D.E. compuestos de clasificación= severidad del dolor + clasificación de la diarrea + clasificación del estreñimiento (cada uno en una escala de 0-5) antes de tratamiento. Otros subgrupos IBS =sujetos con severidad de estreñimiento = severidad de diarrea.

\*Solo 52 sujetos en el grupo neomicina completado el cuestionario suficientemente para determinar este resultado.

>Solo 52 sujetos en el grupo de placebo completaron el cuestionario suficientemente para determinar este resultado. NS = no significativo.

### Comparación de control de caso

20 Los sujetos IBS tienen una prevalencia mayor de LBT anormal que los controles equiparados por sexo con 93 de 111 (84%) sujetos que cumplen con estos criterios comparado con 3 de 15 (20%) controles equiparados por sexo (OR=26.2, CI=4.7-103.9, p<0.00001). Cuando se compara la prevalencia de LBT anormal con pico doble, 55 de 111 IBS sujetos (50%) son positivos comparado con 2 de 15 controles saludables (13%) (p = 001).

### Mediciones del resultado primario

25 En el análisis intención de tratamiento, la neomicina resulta en una reducción de 35.0±0.7% en CS comparado con una reducción de 11.4±1.3% en el grupo de placebo (p<0.05). En el subgrupo de los pacientes con LBT de valores iniciales anormales (n=93), la neomicina produce una reducción de 35.4±0.8% en CS versus una reducción de 3.7±1.6% en el grupo de placebo (p<0.01). No se ve diferencia en los sujetos con prueba de aliento de valores iniciales normales aunque un índice de placebo mayor se reporta en este grupo muy pequeño (51%).

Noventa y uno de los 111 sujetos completaron su porcentaje de preguntas de normalización del intestino después del tratamiento. De estos 91 sujetos, la neomicina resulta en una normalización del intestino reportada del  $40.1 \pm 5.3\%$  comparado con  $15.1 \pm 3.6\%$  para placebo ( $p < 0.001$ ). Entre el subgrupo de los sujetos con pruebas de aliento iniciales anormales, la neomicina resulta en una normalización del  $44.8 \pm 5.6\%$  comparado con  $11.0 \pm 3.3\%$  para placebo ( $p < 0.00001$ ).

La neomicina resulta más fácilmente en respuesta clínica verdadera que el placebo. Entre todos los sujetos que recibieron neomicina, 24 de 55 (43%) experimentaron una mejora de  $\geq 50\%$  en CS versus 13 de 56 (23%) en el grupo de placebo (OR=4.3, CI=1.05-6.3,  $p < 0.05$ ). En el subgrupo de los sujetos con pruebas de aliento anormales, 21 de 46 (46%) recibieron neomicina que tiene una respuesta clínica comparado con 7 de 47 (15%) en el grupo de placebo (OR=4.8, CI=1.62-14.7,  $p < 0.01$ ). Utilizando el reporte objetivo de los pacientes del porcentaje de normalización del intestino, en el grupo completo de sujetos quienes contestaron esta pregunta ( $n=91$ ), 50% de los sujetos que recibieron neomicina tuvieron una respuesta clínica verdadera en contraste con 17% de los sujetos que obtuvieron placebo (OR=4.8, CI=1.7-14.4,  $p < 0.01$ ). En aquellos con prueba de aliento inicial anormal, los sujetos tratados con 55% de neomicina y 11% de placebo tienen una respuesta clínica verdadera (OR=9.6, CI=2.5-39.7,  $p < 0.0001$ ). Finalmente, 7 de los 8 sujetos (88%) quienes tienen LBT normal después de neomicina reportada tienen más del 50% de normalización de la función del intestino.

De los 111 sujetos, solo los 101 sujetos con datos completos se utilizan en el resto del análisis.

De 84 de los 101 sujetos con un LBT de valores iniciales anormal, se tratan 41 con neomicina. Ocho de 41 (20%) alcanzaron la normalización del LBT. Uno de los 43 sujetos en el grupo placebo fue de una prueba de aliento anormal a normal. Se ve una diferencia significativa en la respuesta al síntoma dependiendo del resultado del tratamiento en estos sujetos anormales. Específicamente, el porcentaje de reducción en CS es diferente en los siguientes 3 grupos: sujetos que reciben placebo ( $4.1 \pm 11.7\%$ ), grupo tratado por neomicina que no alcanza la normalización LBT ( $34.4 \pm 6.2\%$ ) y el grupo tratado con neomicina con normalización LBT ( $61.7 \pm 9.4\%$ ) ( $p=0.01$ , ANOVA de una vía) (Figura 2). Utilizando los pacientes autoreportados del porcentaje de normalización del intestino, los 3 grupos son más diferentes. Los sujetos que reciben placebo reportan  $11.0 \pm 3.7\%$  de normalización, los sujetos que reciben neomicina pero no la normalización exitosa de LBT,  $36.7 \pm 6.1\%$  y aquellos sujetos con seguimiento LBT normal después de neomicina reporta  $75.0 \pm 6.4\%$  de normalización de intestino ( $p < 0.000001$ , ANOVA de 1 vía).

La neomicina, aunque estadísticamente más efectivo que el placebo, es solo capaz de normalizar la prueba de aliento 20% del tiempo. Esto puede ser debido a grandes números y tipos de organismos entéricos (30-33) o resistencia bacteriana.

#### Comparación de Tránsito

Cuando se compara la prueba de aliento de hidrógeno media entre los sujetos con diarrea y estreñimiento IBS predominante, no existe evidencia que la predominancia de diarrea tiene aparición de hidrógeno más temprana (datos no mostrados). De hecho, los perfiles de diarrea y estreñimiento son ambos virtualmente superimpuestos y no son diferentes en cualquier punto de tiempo con una media de  $> 20$  ppm en 90 minutos en ambos grupos.

#### Eventos Adversos

Un sujeto desarrolla diarrea acuosa profusa mientras toma placebo. Después se encuentra que el origen de la diarrea es por envenenamiento de los alimentos. Se encuentra que dos de los sujetos involucrados tienen otros diagnósticos. El primer sujeto tiene una masa de 8 cm en el abdomen. El espécimen quirúrgico demuestra linfoma no Hodgkin. Este sujeto está en el grupo de placebo. Se observa que el segundo sujeto tiene retención urinaria, que precipita complicaciones al intestino. El segundo sujeto está en el grupo de neomicina. Estos sujetos tienen un LBT inicial normal. Ambos se incluyen como parte del análisis de intención de tratamiento.

#### Efecto del género

Se observa que ambos sujetos masculinos y femeninos tienen un mejoramiento significativamente mayor en el porcentaje de normalización del intestino sobre el placebo (Figura 3). Adicionalmente, no hay diferencia en la tasa de respuesta entre los pacientes masculinos y femeninos.

#### Tipo de gas y subgrupo IBS

El tipo de gas producido por los sujetos IBS en LBT es predictivo de su subtipo de IBS entre los 84 sujetos con valores iniciales anormales. Después de la exclusión de los sujetos sin producción de gas ( $n=4$ ) y los sujetos en donde la severidad del estreñimiento es igual a la diarrea ( $n=15$ ), se analizan 34 sujetos con diarrea predominante y 31 con estreñimiento e IBS predominante. Veinte de los 31 sujetos con estreñimiento predominante (39%) excreta metano mientras no se ve excreción de metano en los 34 sujetos con diarrea predominante (OR= $\infty$ , CI=3.7-4.3,

$p < 0.001$ , valor predictivo positivo = 100%) (Tabla 2, adelante; y Figura 4). La severidad del estreñimiento es  $4.1 \pm 0.3$  en sujetos con excreción de metano pero solo  $2.3 \pm 0.2$  en excretores sin metano ( $p < 0.01$ ) (Tabla 3, adelante). En una comparación similar, el C-D es  $2.8 \pm 0.5$  en excretores de metano y  $-0.7 \pm 0.3$  para excretores de hidrógeno ( $p < 0.00001$ ) (Tabla 3; y ver Figura 5).

- 5 Tabla 2: Comparación de los subgrupos IBS con base en la excreción de metano e hidrógeno con prueba de aliento anormal.

	Hidrógeno	Metano
(n=65)*		
Diarrea	34	0
Estreñimiento	19	12

\*Después de la exclusión de los sujetos sin producción de gas (n=4), prueba de aliento normal (n=17) y los sujetos donde la severidad de diarrea = severidad de estreñimiento (es decir no es predominante) (n=15).  $P < 0.001$  entre los grupos.

Tabla 3. Evaluación de la severidad de estreñimiento o diarrea con base en la producción de metano en la prueba de aliento de valores iniciales.

	Sin metano	Metano	Valor p
Severidad de estreñimiento	$2.3 \pm 0.2$	$4.1 \pm 0.3$	$< 0.001$
Severidad de la diarrea	$3.0 \pm 0.2$	$1.4 \pm 0.4$	$< 0.001$
Clasificación C-D*	$-0.7 \pm 0.3$	$2.8 \pm 0.5$	$< 0.00001$

\*La clasificación C-D representa la diferencia entre la severidad del estreñimiento y diarrea. Esto se hace para mostrar un peso relativo incrementado de estreñimiento a diarrea con excretores de metano.

- 10 Independiente de cualquier argumento acerca de si la prueba de aliento detecta confiablemente SIBO o no, los datos en este estudio soportan un papel del LBT en el tratamiento de IBS ya que solo cuando el LBT posterior es normal que se realizan las mejoras más grandes del síntoma.

- 15 Aunque la discusión así se ha enfocado en la prueba de aliento de flora intestinal anormal, se requiere discutir otra posible interpretación. Las pruebas de aliento anormales vistas en este estudio pueden representar el tránsito rápido. Los estudios han sugerido que el tránsito del intestino delgado se acelera en la diarrea IBS predominante (34-36). Los estudios similares sugieren que los sujetos con estreñimiento IBS predominante tienen tránsito retrasado (34, 35). Si el tránsito es la explicación para los hallazgos de prueba de aliento anormal entonces los sujetos con estreñimiento IBS predominante deben tener gas retrasado que surge en la prueba de aliento. Por el contrario, en nuestro estudio, las pruebas de aliento son anormales independiente del subgrupo IBS que sugiere que el tránsito solo no puede explicar los hallazgos. Adicionalmente, el mejoramiento clínico en una clasificación compuesta (que consiste de diarrea, estreñimiento y dolor abdominal) que depende de la normalización del LBT no se puede explicar en la base del tránsito solo.

- 25 En resumen, en este estudio controlado por placebo, aleatorio, doble ciego, encontramos una prevalencia mayor de las pruebas de aliento de lactulosa anormal en pacientes IBS que los controles, indicativo de SIBO. Adicionalmente, encontramos que los antibióticos son más efectivos que el placebo en términos de mejoramiento del síntoma y la normalización de la prueba de aliento produce un mejoramiento aún mayor de los síntomas IBS, resulta sustancialmente de un estudio previo (12). Adicionalmente, encontramos que la excreción del metano en la prueba de aliento se asocia en gran medida con el subgrupo de estreñimiento predominante de IBS. La capacidad para identificar los subgrupos de IBS con base en LBT soporta adicionalmente la asociación entre SIBO e IBIS. La presencia de SIBO en pacientes IBIS es consistente con la existencia de la exposición antigénica persistente en IBS.

**Ejemplo 2. La administración de metano para el intestino distal hace lento el tránsito gastrointestinal.**

Ahora mostramos que el metano administrado directamente al intestino distal produce una disminución en el tránsito gastrointestinal. En los perros equipados con el duodeno (10 cm del píloro) e intestino medio (160 cm del píloro) fístulas, se compara el tránsito intestinal a través de un segmento de prueba de 150 cm aislado (entre las fístulas) mientras que el segmento próximo del intestino tiene perfusión con amortiguador de fosfato en pH 7.0 a 2 mL/min durante 90 minutos. Aire ambiente (n = tres perros) o metano (n = tres perros) se suministra en el intestino distal como un bolo de 180-ml en el momento 0. Sesenta minutos después de inicio de perfusión, 20  $\mu$ Ci de  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA (ácido dietilenotriaminopentaacético) se suministra como un bolo en el segmento próximo del intestino. Luego se mide el tránsito intestinal al poner en contacto en radioactividad las muestras de 1 ml recolectadas cada 5 minutos de la salida de desviación de la fístula del intestino medio.

Se calcula el tránsito intestinal al determinar el área bajo la curva (AUC) del porcentaje de recuperación acumulado del marcador radioactivo en los perros de control (administración de aire) y experimental (administración de metano). Los valores de raíz cuadrada del AUC (Sqrt AUC), en donde 0 = sin recuperación por 30 minutos y 47.4 = teórico, la recuperación completa instantánea en el momento 0, se comparan con los animales de control y experimentales, utilizando ANOVA de dos vías de mediciones repetidas.

Los resultados mostrados en la Figura 6, demuestran que la administración del metano al intestino distal sustancialmente disminuye la tasa de tránsito intestinal en el grupo experimental, comparado con el control.

**Ejemplo 3.**

El siguiente estudio confirma e investiga adicionalmente la relación entre complicaciones gastrointestinales (específicamente, diarrea y estreñimiento) en sujetos diagnosticados con IBS con SIBO y excreción de gas en LBT en una base de datos prospectivamente más grande. La prevalencia de los patrones de excreción de gas en IBS y también se comparan las condiciones predominantemente diarreicas de enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa.

**A. Materiales y Métodos.****Población de Pacientes**

Los pacientes consecutivos referidos para una prueba de aliento de lactulosa (LBT) por el Centro Médico de Cedars-Sinai, Programa de Motilidad GI de 1998-2000 completan un cuestionario diseñado para evaluar los síntomas del intestino como se describió previamente (12) después de la aprobación de la junta de revisión institucional. Se solicita a los sujetos la tasa de severidad de nueve síntomas (diarrea, estreñimiento, dolor abdominal, inflamación, sensación de evacuación incompleta, esfuerzo de defecación, incontinencia, mocos, y gas) en una escala de 0-5, 0 que significa la ausencia del síntoma. El cuestionario también infiere si los sujetos tienen enfermedad de Crohn (CD) o colitis ulcerativa (UC). De los sujetos que reportan una historia de enfermedad inflamatoria del intestino (IBD), solo aquellos cuyo diagnóstico se ha confirmado por el Centro de Enfermedades Inflamatorias del intestino del CedarsSinai se incluyen en el análisis. El diagnóstico del IBS identifica si los sujetos cumplen con los criterios Roma I (7). Se encuentra que los sujetos que tienen IBD e IBS se asignan al subgrupo IBD.

se excluyen los sujetos con condiciones predispuestas al tránsito rápido (síndrome de intestino delgado, gastrectomía, etc.), aquellos que toman medicaciones narcóticas, y aquellos sin evidencia de sobrecrecimiento ascendente del LBT.

**Prueba de aliento de Lactulosa (LBT)**

Después del ayuno de una noche, los sujetos completan el cuestionario. Luego se obtiene una muestra de aliento de valores iniciales después de lo cual los sujetos ingieren 10 g de jarabe lactulosa (Inalco Spa, Milano, Italia, empacado por Xactdose Inc., South Beloit, IL). Esto es seguido por 1 onza de agua estéril. Las muestras de aliento luego se recolectan cada 15 minutos durante 180 minutos. Cada muestra se analiza para concentración de hidrógeno, metano, y dióxido de carbono dentro de 15 minutos de colección utilizando cromatografía de gas Quintron Modelo SC (Quintron Instrument Company, Milwaukee, WI. Se analiza el  $\text{CO}_2$  para corregir la calidad de la muestra alveolar.

Se describen tres patrones diferentes de gas anormal luego de la terminación de la prueba:

1. Prueba de aliento positiva de hidrógeno: se eleva en la concentración de hidrógeno en aliento de > 20ppm dentro de 90 minutos de la ingestión de lactulosa (18, 19, 37, 38).

2. Prueba de aliento positiva de hidrógeno y metano: se eleva en ambas concentraciones de hidrógeno y metano en aliento de > 20 ppm dentro de 90 minutos de ingestión de lactulosa.

3. Prueba de aliento positiva de metano: Se eleva en la concentración de metano en aliento de > 20ppm dentro de 90 minutos de ingestión de lactulosa.

#### Análisis de Datos

5 Para todos los sujetos con SIBO, se comparan las clasificaciones de severidad de diarrea y estreñimiento media entre los tres patrones de gas anormales.

10 Con base en las clasificaciones de severidad del síntoma, el grupo IBS completo se subdivide adicionalmente en los subgrupos predominantes de diarrea y predominantes de estreñimiento. Se identifica el estreñimiento IBS predominante si una clasificación de severidad del sujeto excede su clasificación de severidad de diarrea, mientras que se aplica el inverso para la diarrea IBS predominante. Los sujetos quienes tienen una clasificación de severidad de estreñimiento igual a la clasificación de severidad de la diarrea (patrón indeterminado) se excluyen del análisis de subgrupo IBS. Se tabula el porcentaje de sujetos IBS dentro de cada patrón de gas anormal quienes reportan los síntomas de estreñimiento predominante o de diarrea predominantes. También se compara la prevalencia de la producción de metano entre los subgrupos IBS.

15 Posteriormente, se obtiene una clasificación C-D media al calcular la diferencia entre las clasificaciones de severidad de estreñimiento y diarrea. Esto se utiliza para examinar el peso relativo de estreñimiento a diarrea en los sujetos individuales. La clasificación C-D se compara entre los tres patrones de gas en aliento anormales en el grupo como un todo y entre los sujetos IBS.

Finalmente, la prevalencia de cada uno de los tres patrones de gas anormales se evalúa en los sujetos con CD y UC. La prevalencia de la producción de metano se contrasta entre los sujetos con IBS e IBS.

#### 20 Análisis Estadístico

Se conduce un ANOVA de una vía para comparar las clasificaciones de severidad del síntoma entre los tres patrones de gas en LBT. Se analizan los datos de prevalencia con una prueba de chi cuadrado.

#### B. Resultados:

##### Sujetos

25 Al momento del análisis, los 772 pacientes se refieren para LBT y se ingresan en la base de datos. Ciento ochenta y tres sujetos con prueba de aliento negativa, y se excluyen 38 sujetos que toman medicaciones narcóticas o con condiciones predisuestas para el tránsito rápido. Un total de 551 sujetos permanece para análisis. De estos, 78 llevan el diagnóstico de IBD (49 con CD y 29 con UC) y 296 sin IBD cumplen con los criterios Roma I para IBS. De los sujetos con IBS, 120 reportan síntomas de estreñimiento predominante, 111 tienen síntomas de diarrea predominante, y 65 tienen una clasificación de severidad de estreñimiento igual a la clasificación de severidad de la diarrea.

##### Análisis de Crecimiento Ascendente Bacteriano

35 Cuando se evalúa el grupo completo de los sujetos con SIBO (n = 551), las clasificaciones de severidad de diarrea difieren significativamente entre los tres patrones de prueba de aliento anormales (ANOVA de una vía,  $p < 0.00001$ ) (Figura 7). Los sujetos quienes excretan metano reportan clasificaciones de severidad de diarrea significativamente inferiores que aquellos quienes solo producen hidrógeno. La severidad del estreñimiento también difiere significativamente entre los patrones de prueba de aliento ( $p < 0.05$ ), con clasificaciones de severidad mayor reportadas por los sujetos quienes producen metano.

40 Entre todos los sujetos IBS (n = 296), las clasificaciones de severidad de diarrea también difieren de forma similar (ANOVA de una vía,  $p < 0.001$ ) con setenta inferiores reportados por aquellos quienes producen metano que aquellos quienes producen solo gas de hidrógeno (Figura 8).

Quando se evalúa la clasificación C-D como una reflexión del grado de estreñimiento con respecto a la diarrea, el efecto del metano aún es más obvio (Figura 9). En el grupo total y los sujetos IBS, el estreñimiento es el síntomas más prevalente en los individuos, mientras que la diarrea es el síntoma prevalente de los sujetos con solo hidrógeno.

45 Cuando se comparan los subgrupos IBS, se reporta estreñimiento IBS predominante mediante 91 (37%) de los sujetos que excretan hidrógeno, 23 (52.3%) de los sujetos excretan hidrógeno y metano y 6 (100%) de los sujetos excretan metano. En contraste, se observa diarrea IBS predominante en 105 (42.7%) de los excretores de hidrógeno, 6 (13.6%) de los excretores de hidrógeno y metano, y ninguno de los excretores de metano (Figura 10).

Enfermedad inflamatoria del intestino y metano

El gas predominante excretado por los pacientes con IBD es solo hidrógeno, detectado en 47 de los 49 sujetos (95.9%) con enfermedad de Crohn y 29 de los 29 (100%) sujetos (100%) con colitis ulcerativa. (Figura 11).

Producción de metano entre los sujetos con IBS e IBD

5 Se tabula el porcentaje de los sujetos con IBS quienes producen cada uno de los tres patrones de gas. De los 296 sujetos IBS, 246 (83.1%) producen solo gas de hidrógeno, 44 (14.9%) producen gas de hidrógeno y metano, y 6 (2.0%) producen solo gas de metano. La producción de metano depende significativamente de sí o no los sujetos tienen IBS o IBD. Los sujetos IBS producen más fácilmente gases de metano que los sujetos con colitis ulcerativa o enfermedad de Crohn (OR 7.7, CI 1.8 - 47.0,  $p < 0.01$ ) (Tabla 4).

10 Tabla 4. Comparación de prevalencia de producción de gas de metano a no metano entre los sujetos con IBS e IBD.

Tipo de enfermedad	CH4	Sin CH4
IBS (n= 296)	50	246
UCorCD(n=82)	2	76

Chi cuadrado 9.4, OR 7.7, CI 1.8 - 47.0, valor  $p < 0.01$

REFERENCIAS CITADAS

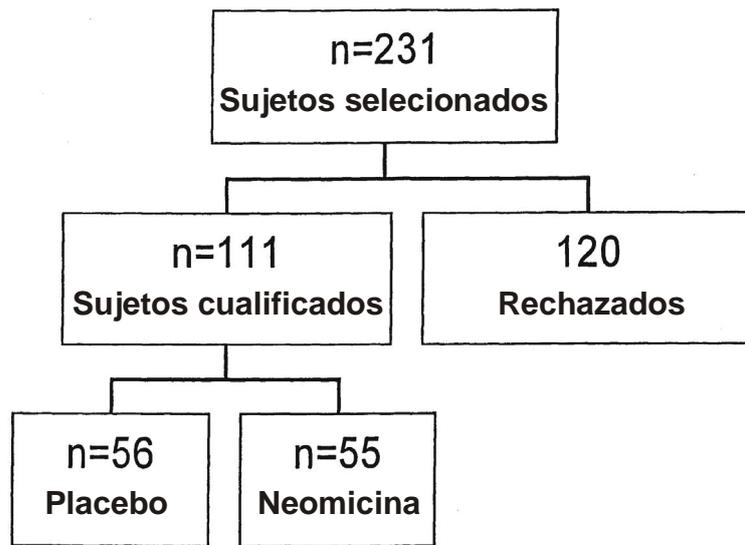
1. Drossman DA, Sandler RS, McKee DL, Lovitz AJ. Bowel patterns among subjects not seeking health care. *Gastroenterology* 1982;83:529-34.
- 15 2. Thompson WG, Heaton KW. Functional bowel disorders in apparently healthy people. *Gastroenterology* 1980; 79:283-8.
3. Kumar D, Wingate DL. The irritable bowel syndrome: a paroxysmal motor disorder. *Lancet* 1985;2:973-77.
4. Grundy D. Mechanisms for the symptoms of irritable bowel disease-possible role of vagal afferents. In, *Neurogastroenterology from the Basics to the Clinics*. H-J Krammer and MV Singer, Editors, Klumer Academic Publishers, Boston, 2000, pp. 659-663.
- 20 5. Silverman DHS, Munakata JA, Ennes H, Mandelkem MA, Hoh CK, Mayer EA. Regional cerebral activity in normal and pathological perception of visceral pain. *Gastroenterology* 1997; 112:64-72.
6. Whitehead WE, Crowell MD, Robinson JC, Heller BR, Schuster MM. Effects of stressful life events on bowel symptoms: Subjects with irritable bowel syndrome compared with subjects without bowel dysfunction. *Gut* 1992; 33:825-30.
- 25 7. Drossman DA, Richter JE, et al., eds. *Functional gastrointestinal disorders: diagnosis, pathophysiology and treatment: a multinational consensus*. Boston: Little, Brown, 1994.
8. Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Müller-Lissner SA. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. Rome II: A multinational consensus document on functional gastrointestinal disorders. *Gut* 1999;45:1143-47.
- 30 9. Kruis W, Thieme CH, Weinzierl M, Schüssler P, Holl J, Paulus W. A diagnostic score for the irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1984;87:1-7.
10. Sullivan SN. A prospective study of unexplained visible abdominal bloating. *N Z Med J* 1994;107:428-30.
- 35 11. Koide A, Yamaguchi T, Odaka T, et al. Quantitative analysis of bowel gas using plain abdominal radiograph in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1735-41.

12. Pimentel M, Chow EJ, Lin HC. Eradication of small intestinal bacterial overgrowth reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Am J Gastro* 2000;95:3503-6.
13. Fiedorek SC, Pumphrey CL, Casteel HB. Breath methane production in children with constipation and encopresis. *J Pediatr Gastroenterol* 1990;10:473-77.
- 5 14. Fass R, Longstreth GF, Pimentel M, Fullerton S, Russak SM, Chiou C-F, Reyes E, Crane P, Eisen G, McCarberg B, Ofman J. Evidence and consensus-based practice guidelines for the diagnosis of irritable bowel syndrome. *Arch Intern Med* 2001;161:2081-8.
15. Veldhuyzen Van Zanten SJO, Talley NJ, Bytzer P, Klein KB, Whorwell PJ, Zinsmeister AR. Design of treatment trials for functional gastrointestinal disorders. *Gut* 1999;45:1169-77.
- 10 16. Whitehead WE, Corazziari E, Prizont R, Senior JR, Thompson WG, Veldhuyzen Van Zanten SJO. Definition of a responder in clinical trials for functional gastrointestinal disorders: report on a symposium. *Gut* 1999;45(Suppl II): II78-9.
17. Camilleri M, Northcutt AR, Kong S, Dukes GE, McSorley D, Mangel AW. Efficacy and safety of alosetron in women with irritable bowel syndrome: a randomized, placebo-controlled trial. *Lancet* 2000;355:1035-40.
- 15 18. Bond JH Jr., Levitt MD. Investigation of small bowel transit time in man utilizing pulmonary hydrogen (H<sub>2</sub>) measurements. *J Lab Clin Med* 1975;83:546-555.
19. Joseph F Jr, Rosenberg AJ. Breath testing: diseased versus normal patients. *J Pediatr Gastroenterol* 1988;7:787-8.
- 20 20. Galatola G, Grosso M, Barlotta A, et al. Diagnosis of bacterial contamination of the small intestine using the 1g [14C] xylose breath test in various gastrointestinal diseases. *Menerva Gastroenterologic Dietologica* 1991;37: 169-75.
21. Nayak A, Karnad D, Abraham P, Misty FP. Metronidazole relieves symptoms in irritable bowel syndrome: the confusion with so-called 'chronic amebiasis'. *Indian J Gastroenterol* 1997;16:137-9.
22. King TS, Elia M, Hunter JO. Abnormal colonic fermentation in irritable bowel syndrome. *Lancet* 1998;352:1187-9.
- 25 23. Neal KR, Hebden J, Spiller R. Prevalence of gastrointestinal symptoms six months after bacterial gastroenteritis and risk factors for development of the irritable bowel syndrome: postal survey of patients. *BMJ* 1997;314:779-82.
24. Collins SM, Barbara G, Vallance B. Stress, inflammation and the irritable bowel syndrome. *Canadian Journal of Gastroenterology* 1999;13:47A-49A.
- 30 25. Weaver GA, Krause JA, Miller TL, Wollin MJ. Incidence of methanogenic bacteria in a sigmoidoscopy population: an association of methanogenic bacteria and diverticulosis. *Gut* 1986;27:698-704.
26. Bjorneklett A, Fausa O, Midtvedt T. Bacterial overgrowth in jejunal and ileal disease. *Scand J Gastroenterol* 1983;18:289-98.
27. McKay LF, Eastwood MA, Brydon WG. Methane excretion in man—a study of breath, flatus and faeces. *Gut* 1985;26:69-74.
- 35 28. Castiglione F, Blanco GDV, Rispo A, et al. Orocecal transit time and bacterial overgrowth in patients with Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol* 2000;31:63-66.
29. Riordan SM, McIvor CJ, Walker BM, Duncombe VM, Bolin TD, Thomas MC. The lactulose hydrogen breath test and small intestinal bacterial overgrowth. *Am J Gastroenterol* 1996;91:1795-1803.
- 40 30. Bentley DW, Nichols RL, Condon RE, Gorbach SL. The microflora of the human ileum and intrabdominal colon: results of direct needle aspiration at surgery and evaluation of the technique. *J Lab Clin Med* 1972;79:421-9.
31. Gorbach SL. Intestinal Microflora. *Gastroenterology* 1971;60:1110-29.
32. Nichols RL, Condon RE, Bentley DW, Gorbach SL. Ileal microflora in surgical patients. *J Urol* 1971;106:351-3:

33. Plaut AG, Gorbach SL, Nahas L, Weinstein L, Spanknebel G, Levitan R. Studies of intestinal microflora. 3. The microbial flora of human small intestinal mucosa and fluids. *Gastroenterology* 1967;53:868-73.
34. Cann PA, Read NW, Brown C, Hobson N, Holdsworth CD. Irritable bowel syndrome: relationship of disorders in the transit of a single solid meal to symptom patterns. *Gut* 1983;24:406-11.
- 5 35. Read NW, Al-Janabi MN, Hogate AM, Barber DS, Edwards CA. Simultaneous measurement of gastric emptying, small bowel residence and colonic filling of a solid meal by the use of the gamma camera. *Gut* 1986;27:300-8.
36. Hutchinson R, Notghi A, Smith NB, Harding LK, Kumar D. Scintigraphic measurement of ileocaecal transit in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation. *Gut* 1995;36:585-9.
- 10 37. Rhodes JM, Middleton P, Jewell DP. The lactulose hydrogen breath test as a diagnostic test for small intestinal bacterial overgrowth. *Scand J Gastroenterol* 1979;14:333-6.
38. Kerlin P, Wong L. Breath hydrogen testing in bacterial overgrowth of the small intestine. *Gastroenterol* 1988;96:982-8.
39. Rutgeerts P, Ghos Y, Vantrappen G, Eyssen H. Ileal dysfunction and bacterial overgrowth in patients with Crohn's disease. *European J Clin Invest* 1981;11:199-206.
- 15 40. Funayama Y, Sasaki I, Naito H, et al. Monitoring and antibacterial treatment for postoperative bacterial overgrowth in Crohn's disease. *Diseases of the Colon and Rectum* 1999;42:1072-7.
41. Peled Y, Weinberg D, Hallak A, et al. Factors affective methane production in humans. *Gastrointestinal diseases and alterations of colonic flora. Dig Dis Sci* 1987;32:267-71.
- 20 42. Melcher EA, Levitt MD, Slavin JL. Methane production and bowel function parameters in healthy subjects on low- and high fiber diets. *Nutrition and Cancer* 1991;16:85-92.
43. Levitt MD, Ingelfinger FJ. Hydrogen and methane production in man. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1968;160:75-81.

**REIVINDICACIONES**

1. Un inhibidor selectivo de metanogenia, seleccionado de monensina y un inhibidor de reductasa HMG-CoA, para uso en el tratamiento del estreñimiento.
- 5 2. Un agente que comprende metano o un precursor de metano que origina la presión parcial del metano en el intestino de un sujeto que se ha tratado para que se incremente para uso en el tratamiento de la diarrea.
3. El agente de acuerdo con la reivindicación, 2 para uso en el tratamiento de la diarrea en donde el agente es un precursor de metano que comprende un catalizador y sustrato químico que origina la presión parcial del metano en el intestino de un sujeto que se ha tratado para que se incremente.



**Figura 1**

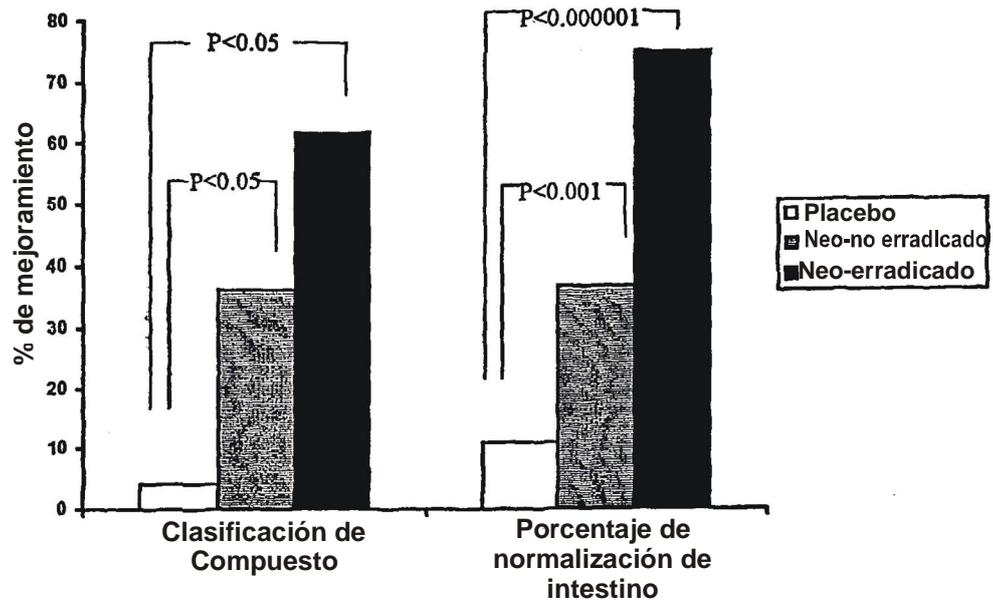
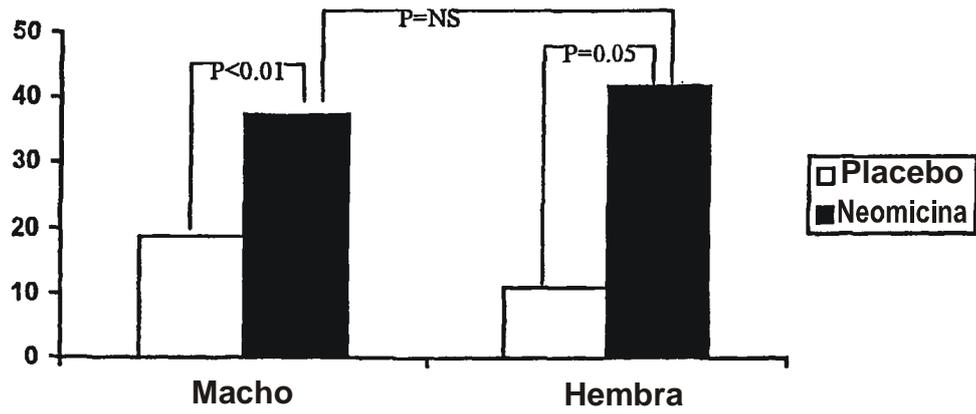
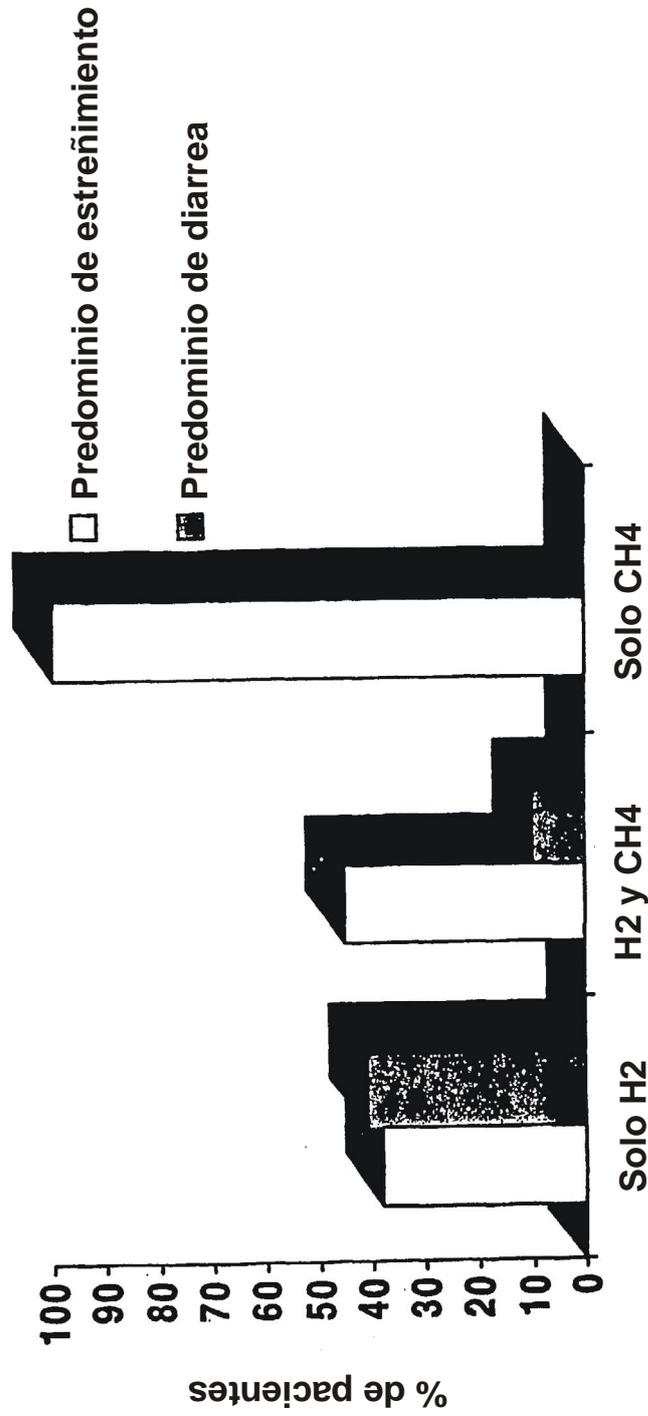


Figura 2



**Figura 3**

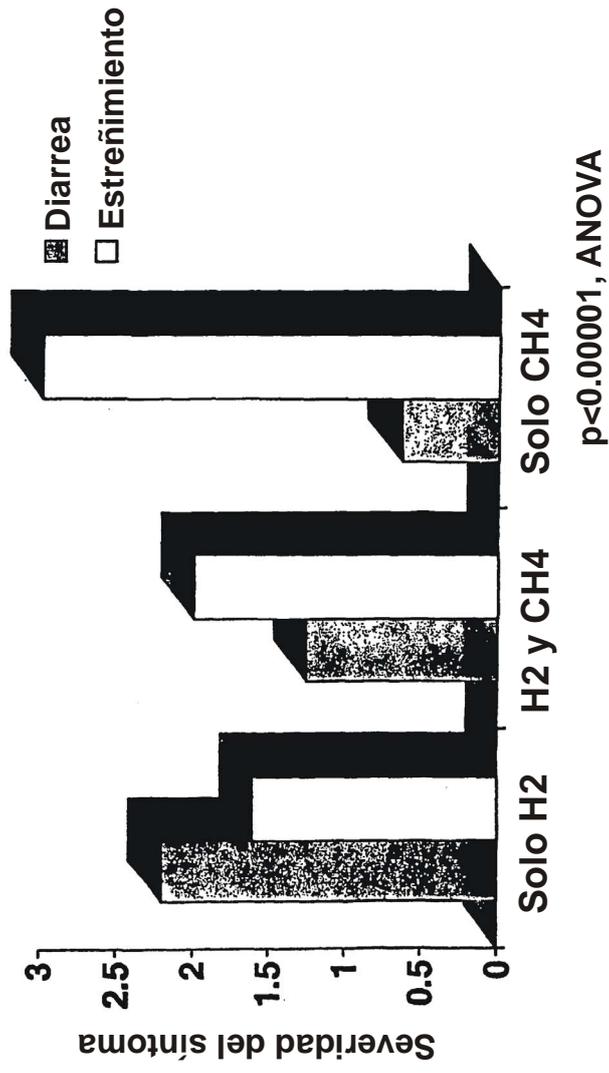
# PATRÓN DE PRODUCCIÓN DE GAS Y TIPO DE SÍNTOMA



p<0.001 para diarrea, p<0.00001 para estreñimiento, ANOVA  
 Programa de motilidad gastrointestinal del Cedars-Sinai

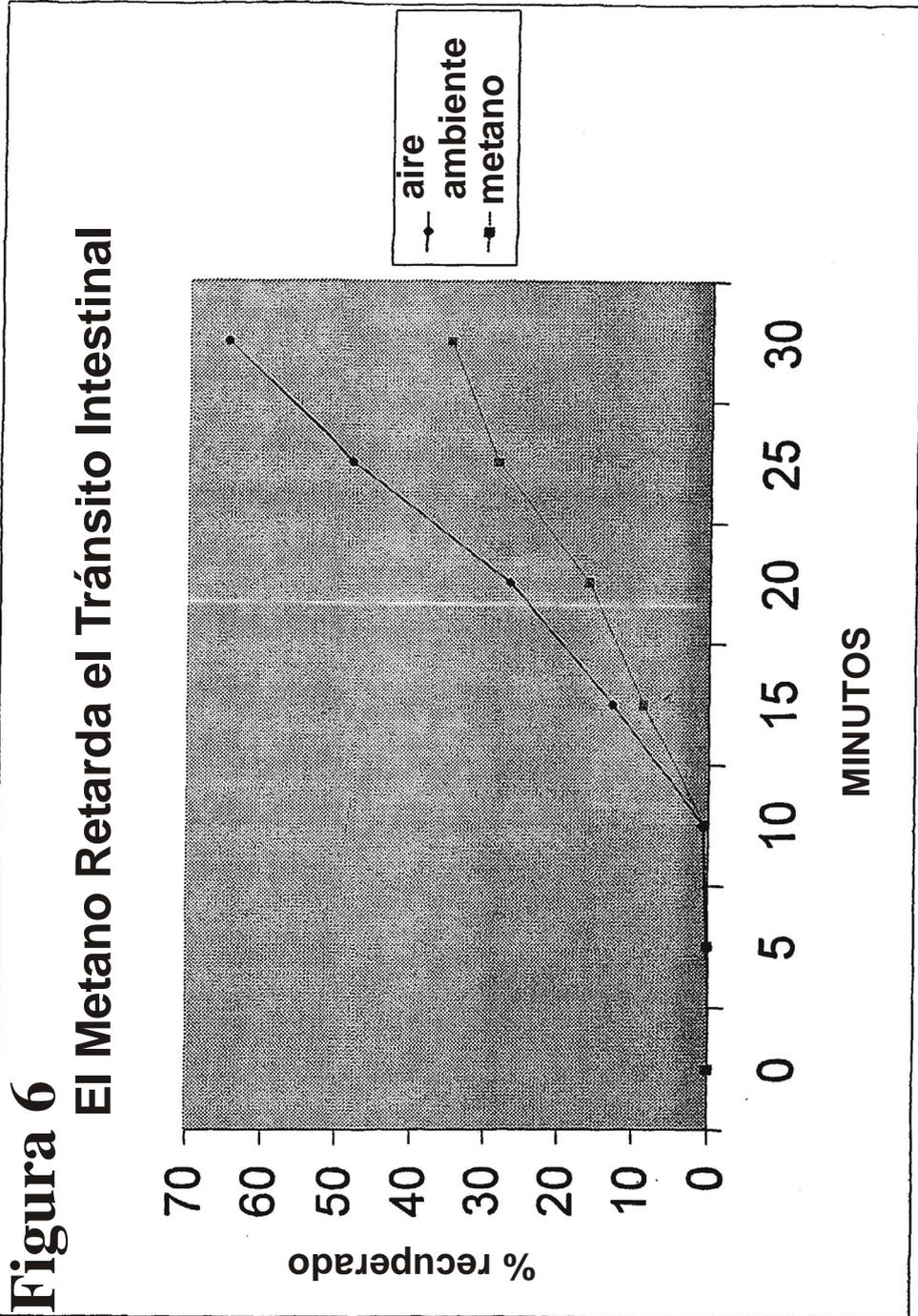
**Figura 4**

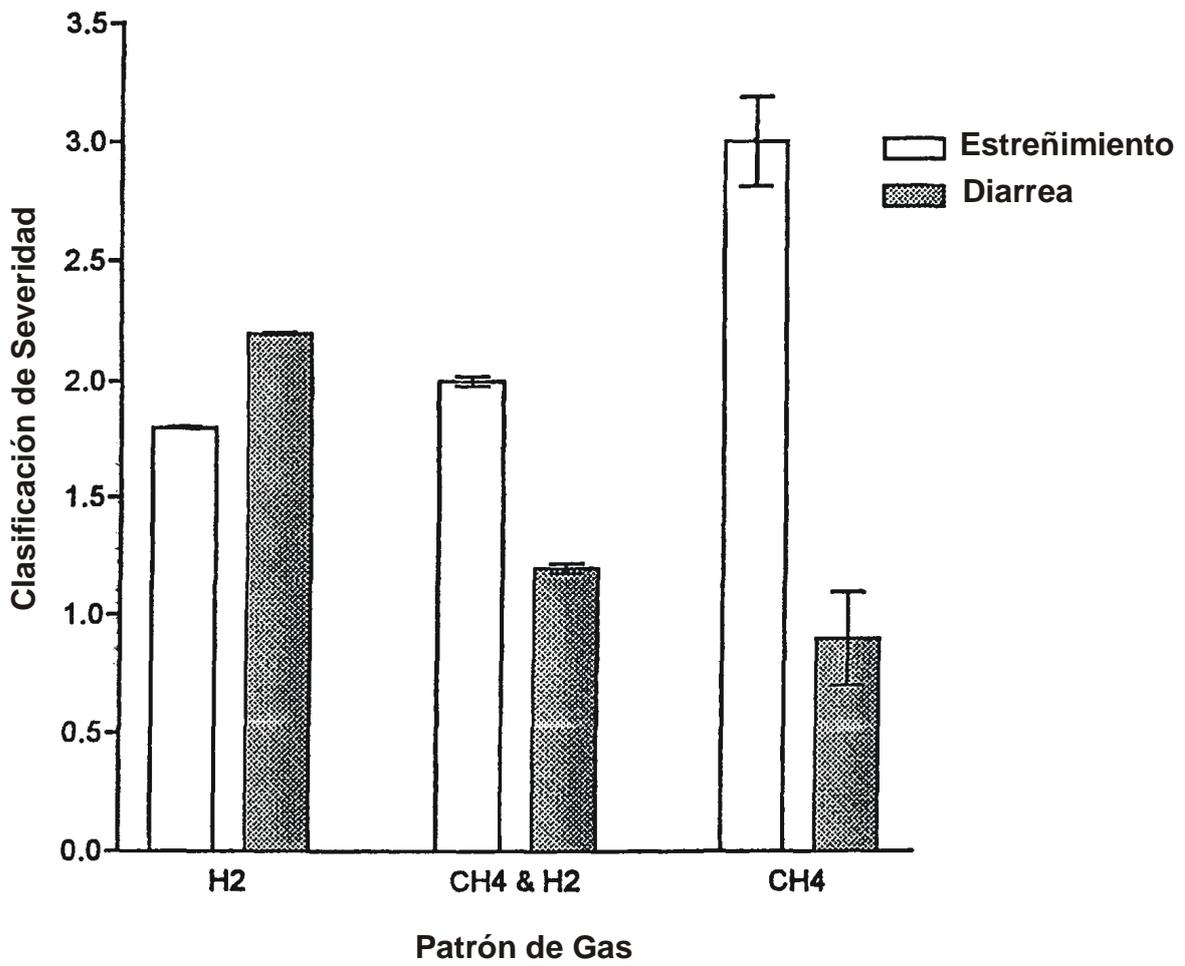
# DIARREA PREDOMINANTE Y ESTREÑIMIENTO PREDOMINANTE IBS



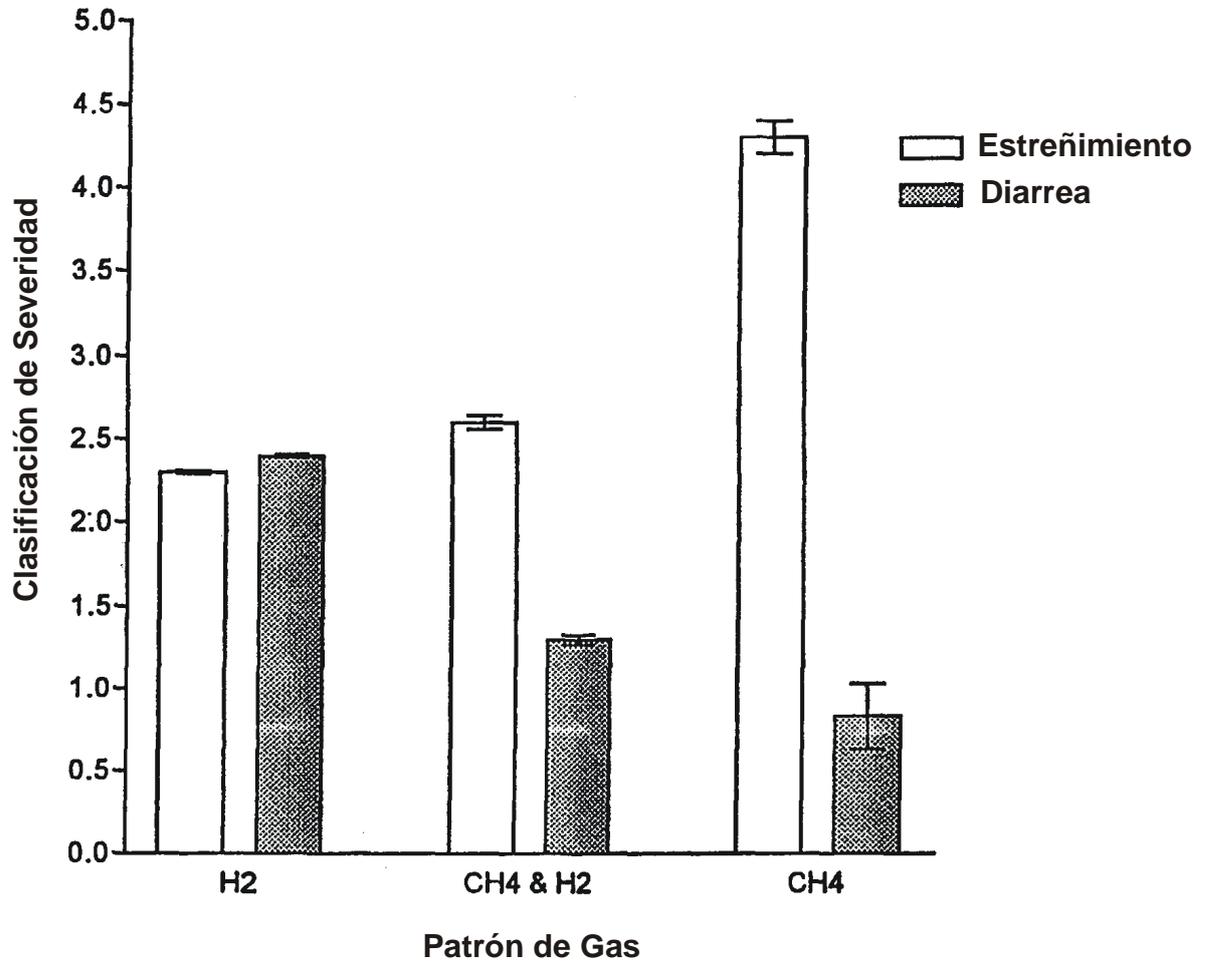
Programa de motilidad gastrointestinal del Cedars-Sinai

Figura 5

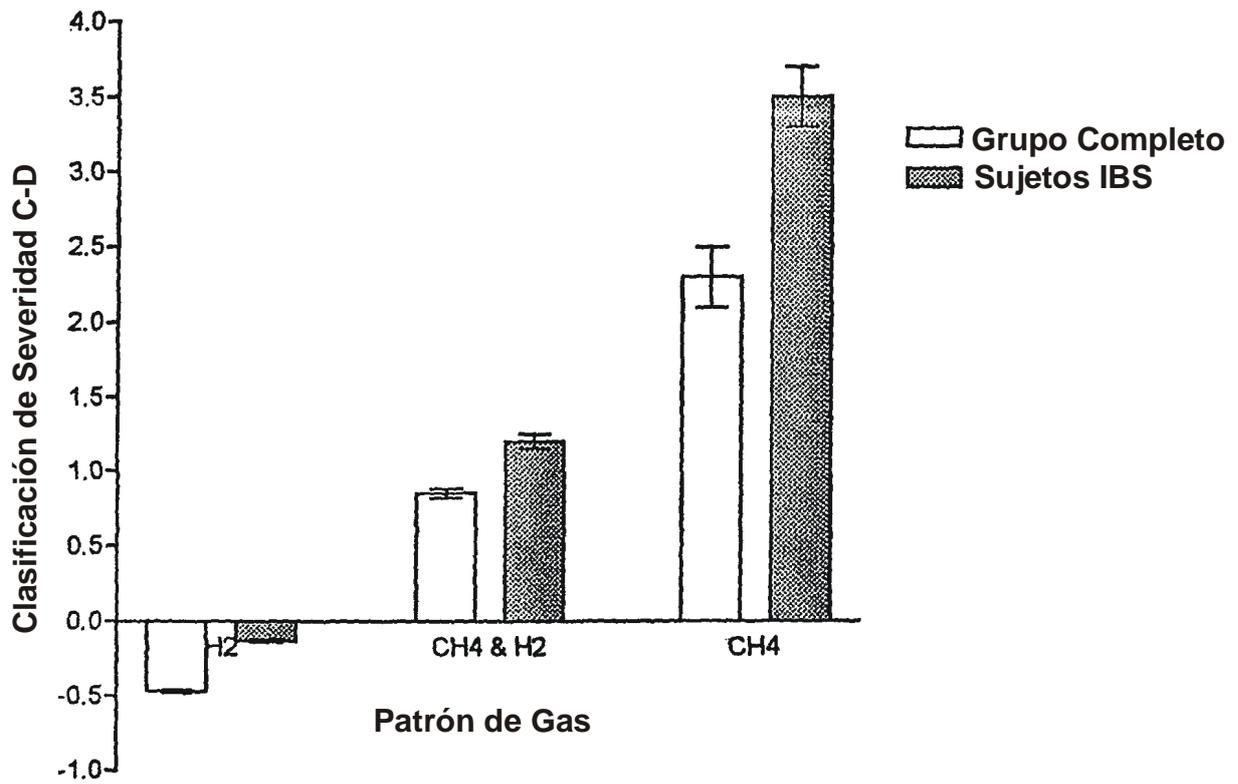




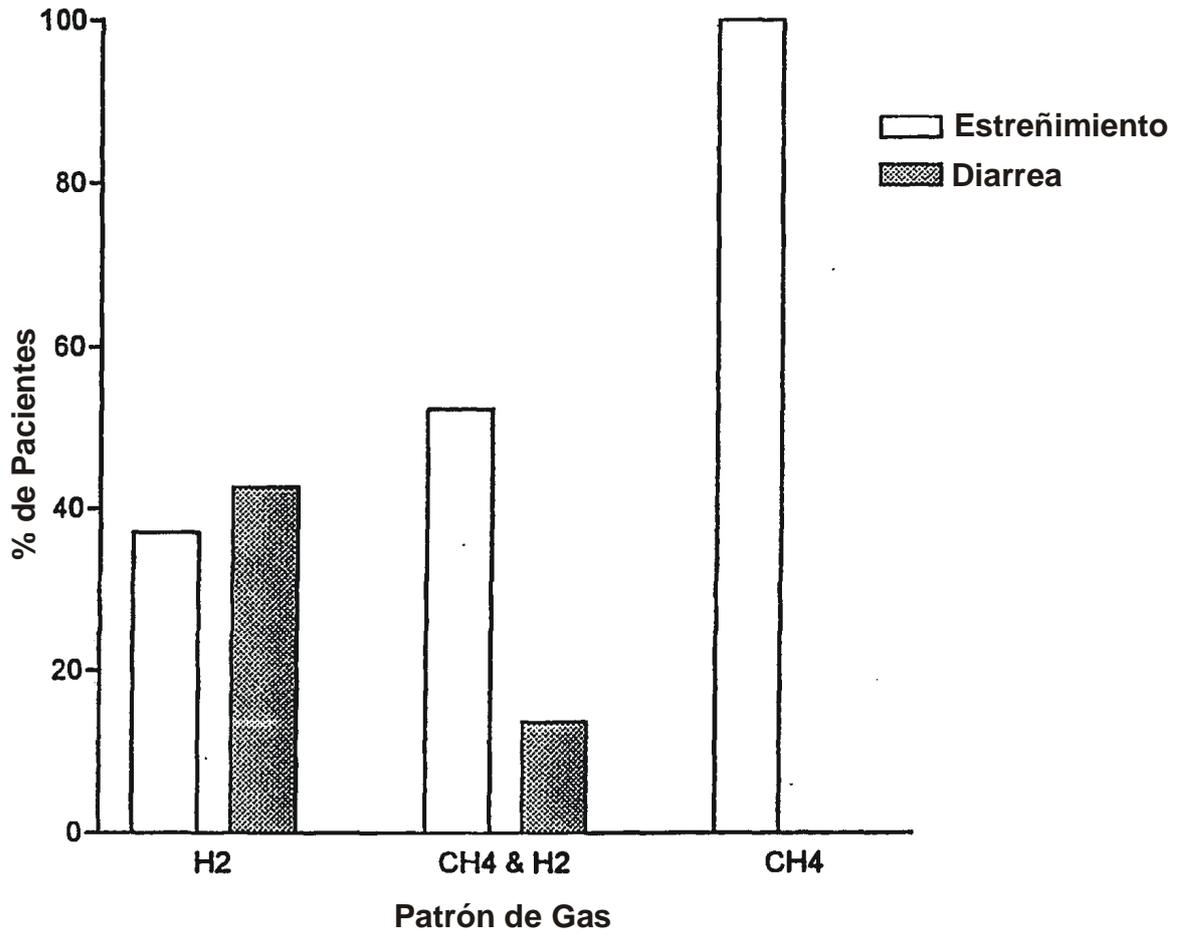
**Figura 7**



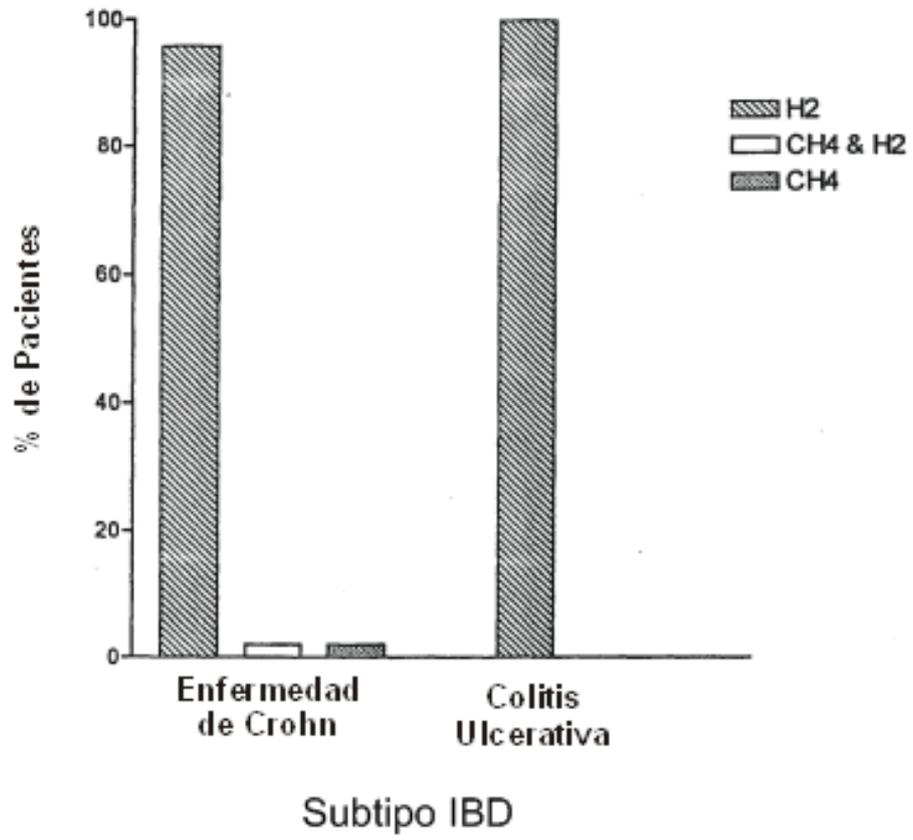
**Figura 8**



**Figura 9**



**Figura 10**



**Figura 11**