

Estado de la publicación: No informado por el autor que envía

Densidad de Células Ganglionares y Perfil del Microbioma Colónico en Síndrome de Pseudoobstrucción: una Serie de Casos

Leonidas De La Sota-Zubeleta, Kasandra Ascuña-Durand, Leonell De La Sota-Vilca, Renzo Salazar-Sanchez

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.9547>

Enviado en: 2024-08-02

Postado en: 2024-08-02 (versión 1)

(AAAA-MM-DD)

Title: Ganglion Cell Density and Colonic Microbiome Profile in Pseudo-obstruction Syndrome: A Case Series

Título: Densidad de Células Ganglionares y Perfil del Microbioma Colónico en Síndrome de Pseudoobstrucción: una Serie de Casos

De La Sota-Zubeleta Leonidas¹

¹Departamento de Cirugía, Hospital III EsSalud Juliaca, Perú.

<https://orcid.org/0009-0001-2996-7405>

Ascuña-Durand, Kasandra²

²Laboratorio de Innovación de Salud, Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

<https://orcid.org/0000-0002-7644-0315>

De La Sota-Vilca Leonell^{3,4}

³Departamento de Cirugía, Clínica Monte Sinaí, Juliaca, Perú.

⁴Cirugía General y Laparoscópica, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

<https://orcid.org/0009-0002-8624-1958>

Salazar-Sanchez Renzo⁵

⁵Grupo de Investigación en Genética Estadística. Instituto de Biometría Médica. Universidad de Heidelberg, Alemania.

<https://orcid.org/0000-0002-5127-0479>

Resumen

Antecedentes: Durante la práctica clínica se ha observado que los casos de vólvulo sigmoideo pueden tener complicaciones posteriores a su tratamiento correspondientes al síndrome de pseudoobstrucción colónica aguda (ACPO, por sus siglas en inglés) y crónica (CIPO, por sus siglas en inglés), siendo mucho más frecuente su forma aguda también llamado síndrome de Ogilvie. No se comprende completamente la causa y el mecanismo subyacente al desarrollo de estas condiciones. Aunque se han descrito posibles causas en otros estudios, la investigación enfocada en el estado de las células ganglionares y el microbioma del paciente es limitada. Este estudio tiene como objetivo aportar a la literatura médica el conteo de las células ganglionares y la diversidad microbiana de seis pacientes diagnosticados con pseudoobstrucción colónica aguda y crónica observada en pacientes de la zona altoandina del sur del Perú.

Presentación de caso: El antecedente común que caracteriza y agrupa a los casos reportados es la sigmoidectomía previa por vólvulo de sigmoides, junto con la presencia de signos y síntomas de un cuadro obstructivo funcional agudo y crónico. En todos los casos, el diagnóstico clínico posterior al tratamiento de vólvulo sigmoideo fue ACPO o CIPO. Estos diagnósticos fueron confirmados mediante radiografía de abdomen y tomografía. Se inició un tratamiento médico conservador con Neostigmina. La falta de respuesta al tratamiento conllevó a realizar diversas técnicas quirúrgicas.

Conclusión: Todos los pacientes mostraron hipoganglioneosis. Según el análisis del microbioma, en cuatro de ellos, el filo predominante fue Firmicutes y el enterotipo predominante fue *Prevotella*. En los otros dos pacientes, se observó un porcentaje elevado de Proteobacterias, con *Bacteroides* como enterotipo predominante. La relación de Firmicutes/*Bacteroidetes* promedio fue de 4.9. Nuestro estudio muestra la existencia de disbiosis bacteriana en dos pacientes con hipoganglioneosis colónica, que podría estar relacionada con la fisiopatología del ACPO y del CIPO. Adicionalmente, reportamos alteraciones en la frecuencia relativa de bacterias asociadas al metabolismo de flavonoides.

Palabras clave: Vólvulo sigmoideo, pseudoobstrucción colónica aguda, pseudoobstrucción colónica crónica, hipoganglioneosis, microbioma

Abstract

Background: During clinical practice, it has been observed that cases of sigmoid volvulus can develop complications post-treatment corresponding to acute colonic pseudo-obstruction (ACPO) and chronic intestinal pseudo-obstruction (CIPO), with the acute form, also known as Ogilvie's syndrome, being more common. The cause and underlying mechanism for the development of these conditions are not fully understood. Although potential causes have been described in other studies, research focused on the status of ganglion cells and the patient's microbiome is limited. This study aims to contribute to the medical literature by examining the ganglion cell content and microbial diversity in six patients diagnosed with acute and chronic colonic pseudo-obstruction observed in patients from the high Andean region of southern Peru.

Case Presentation: The common background characterizing and grouping the reported cases is the previous sigmoidectomy for sigmoid volvulus, along with the presence of signs and symptoms of an acute and chronic functional obstructive condition. In all cases, the clinical diagnosis following the treatment of sigmoid volvulus was ACPO or CIPO. These diagnoses were confirmed by abdominal X-ray and tomography. A conservative medical treatment with Neostigmine was initiated. The lack of response to this treatment led to various surgical techniques being performed.

Conclusion: All patients presented with hypoganglionosis. According to microbiome analysis, in four of them, the predominant phylum was Firmicutes and the predominant enterotype was Prevotella. In the other two patients, a high percentage of Proteobacteria was observed, with Bacteroides as the predominant enterotype. The average Firmicutes/Bacteroidetes ratio was 4.9. Our study shows the existence of bacterial dysbiosis in two patients with colonic hypoganglionosis, which could be related to the pathophysiology of ACPO and CIPO. Additionally, we report alterations in the relative frequency of bacteria associated with flavonoid metabolism.

Keywords: Sigmoid volvulus, acute colonic pseudo-obstruction, chronic colonic pseudo-obstruction, hypoganglionosis, microbiome

Antecedentes:

A lo largo de años de práctica clínica en Juliaca, Perú, se ha observado que muchos pacientes con vólvulo sigmoideo desarrollan posteriormente pseudoobstrucción colónica aguda o crónica. Aunque la bibliografía sobre estos hallazgos es limitada, reportamos la casuística observada durante los últimos 27 años y presentamos el reporte de pacientes tratados en 2024. La evidencia reciente indica que la homeostasis gastrointestinal depende de las complejas interacciones entre el sistema nervioso entérico, el epitelio, el sistema inmunológico y el microbioma intestinal. La alteración de estas interacciones puede causar enfermedades gastrointestinales, incluyendo enfermedades idiopáticas [1]. Los síndromes de pseudoobstrucción se clasifican en agudo y crónico, siendo consideradas pseudoobstrucciones colónicas cuando los signos, síntomas y hallazgos radiográficos indican obstrucción del intestino grueso sin causa mecánica [2]. Una causa de pseudoobstrucción es la hipoganglionesis intestinal, que es la reducción de células ganglionares entéricas, se presenta rara vez en adultos, principalmente como resultado de una cirugía por estreñimiento prolongado y megacolon [3].

La pseudoobstrucción colónica aguda (ACPO) o también llamada síndrome de Ogilvie, describe la dilatación anormal del colon sin presencia de una obstrucción mecánica, este síndrome se presenta con mayor frecuencia en pacientes con comorbilidades tales como como afecciones graves del sistema musculoesqueléticas, traumatismos, intervenciones quirúrgicas o sepsis, asociándose con un mayor índice de morbilidad y mortalidad [2,4]. El riesgo de desarrollar ACPO aumenta al presentar desequilibrio de electrolitos, debilitamiento y el uso de medicamentos como narcóticos y anticolinérgicos [4,5]. También se le ha relacionado a trastornos neurológicos, insuficiencia cardíaca, infecciones, y uso de algunos fármacos tales como benzodiazepinas y antidepresivos tricíclicos [5].

Se ha reportado que afecta mayormente a hombres hospitalizados o internados con condiciones médicas y quirúrgicas graves con una edad promedio de 60 años. Como síntomas generales se presenta distensión abdominal usualmente observada entre 3 a 7 días después del post operatorio, aunque hay pacientes que lo presentan a las 24 horas, náuseas con vómitos y estreñimiento. En pacientes sometidos a cirugía, los signos y síntomas suelen aparecer a los 5 días después de su operación. Su diagnóstico se basa en los signos hallados en la radiográfica simple de abdomen [2,4], en donde el colon tiene una dilatación mayor a 9 cm. [4]. La fisiopatología de la ACPO no se comprende completamente, sin embargo, se ha reportado que podría deberse a una afectación indirecta del plexo parasimpático del colon. Esta alteración provocaría pérdida del tono muscular, que resultaría en una distensión y, subsecuentemente

una obstrucción intestinal. Sugiriéndose que esta patología podría ser consecuencia de un desequilibrio entre la inervación simpática y parasimpática del colon [5,6].

Mientras que, la pseudoobstrucción colónica crónica (CIPO) es un trastorno de la motilidad intestinal que imita una obstrucción mecánica, pero sin la presencia de algún proceso obstructivo. Es reportada como una de las principales causas de insuficiencia intestinal [7]. CIPO es considerada como una condición rara de tipo congénita, adquirida o incluso idiopático, las cuales pueden ser clasificadas en tres categorías histológicas a) Neuropáticas, afectando al sistema nervioso entérico o al sistema nervioso extrínseco, b) Miopáticas, afectando al músculo liso o c) Mesenquimopáticas una anomalía en las células intersticiales de Cajal, pudiendo presentarse más de uno a la vez. Otras razones consideradas para el desarrollo de CIPO son una disminución significativa de las células ganglionares en la zona de transición como mal resultado quirúrgico, y a causa de efectos secundarios de diversas enfermedades intestinales, o ser de origen idiopático [7–9].

Por otra parte, el microbioma intestinal ha sido ampliamente estudiado y relacionado con el desarrollo de diferentes enfermedades intestinales, principalmente porque es un ecosistema complejo en composición (comunidades microbianas compuestas por virus, bacterias, archaeas y protozoos) y funcionalidad [10,11], cuyo metabolismo modula la fisiología del hospedero contribuyendo a regular el normal funcionamiento del cuerpo en general [12,13]. Entre las principales funciones atribuidas al microbioma intestinal tenemos la regulación de la digestión, inmunológica y de protección del tracto digestivo. En este sentido, la microbiota intestinal es fundamental para preservar la integridad del sistema nervioso entérico [14–16].

Aunque factores tan diversos como la edad, región geográfica, dieta, medicación e incluso la forma de nacimiento y lactancia afectan y modelan la composición del microbioma, todas estas variantes son consideradas como microbioma intestinal normal debido a que las funciones normales no han sido alteradas [17–19]. Sin embargo, el desequilibrio del microbioma o también llamado disbiosis influye en el desarrollo de enfermedades propias del tracto intestinal como de la motilidad intestinal y los trastornos metabólicos [20] y otras enfermedades extraintestinales, como por ejemplo desórdenes mentales y enfermedad cardiovascular [21,22]. La literatura científica ha descrito características particulares en la composición microbiana que ayudan a definir si existe alteraciones que podrían derivar en el desarrollo de algunas enfermedades. Es así que en relación al síndrome de pseudoobstrucción, la presencia abundante y sostenida del filo Proteobacteria en la flora intestinal humana compromete su equilibrio [20] y el agotamiento de las bacterias intestinales altera la motilidad, secreción y permeabilidad gastrointestinal [14].

Por lo que, la disbiosis microbiana está vinculada estrechamente con los trastornos gastrointestinales [15].

Toda esta información, sumada a la experiencia clínica de muchos años, nos impulsa a relatar lo observado en la práctica clínica y explorar las características anatomopatológicas y del microbioma de los pacientes estudiados teniendo en consideración la hipótesis en la que planteamos la presencia de una disminución en el conteo de células ganglionares y una diversidad microbiana diferente como posibles causas del desarrollo del síndrome de pseudoobstrucción intestinal observado en los pacientes de la región altoandina del sur de Perú.

Población de estudio

Se realizó un estudio de casos diagnosticados en el Hospital Base III de la Red Asistencial Juliaca de EsSalud localizado a 3890 msnm en el departamento de Puno, en los Andes del sur de Perú. El reporte de la serie de casos corresponde a pacientes con diagnóstico de pseudoobstrucción intestinal, tanto aguda como crónica, identificados entre el año 2018 y 2023 bajo los siguientes criterios establecidos: (a) Cuadro obstructivo agudo en el postoperatorio inmediato, secundario a sigmoidectomía y anastomosis término-terminal primaria por vólvulo de sigmoides, caracterizado por náuseas, vómitos, distensión y dolor abdominal. Diagnóstico confirmado mediante radiografía simple de abdomen y tomografía helicoidal multicorte, observándose la ausencia de niveles hidroaéreos y la dilatación del marco colónico, con un diámetro mayor a 9 cm. (b) Episodios recurrentes de pseudoobstrucción intestinal caracterizados por incremento del perímetro abdominal, ruidos hidroaéreos audibles a distancia y cuadros de enteritis con descargas diarreicas frecuentes, confirmados mediante radiografía y tomografías en el postoperatorio mediano y a largo plazo.

Presentación de casos

Se describe seis casos clínicos: Cuatro de pseudoobstrucción intestinal aguda y dos de crónica como efecto secundario a un tratamiento quirúrgico por vólvulo de sigmoides, asociado a manifestaciones clínicas de enteritis y consumo crónico de hojas de coca. Las piezas anatómicas del colon fueron obtenidas de los pacientes durante la última intervención quirúrgica y sometidas a tinción de Hematoxilina y Eosina (H&E) para su examen. Adicionalmente, se realizó la inmunotinción con Calretinina para determinar el número de células ganglionares por mm² en todos los pacientes expresado en campos de alta potencia (HPF por sus siglas en inglés) (Figura 1). Adicionalmente, se incluye el reporte del análisis del microbioma intestinal realizado

mediante secuenciamiento de las regiones hipervariables V3 y V4 del gen que codifica la subunidad 16S del ribosoma (16S rARN) a partir de muestras de materia fecal tomadas durante la intervención quirúrgica para determinar la composición del perfil microbiano observados en cada paciente (Figura 2). Los resultados se resumen en la Tabla 1.

Caso 1

Presentamos como primer caso a un varón de 39 años procedente de la ciudad de Juliaca. Ingresó el 4 de enero del 2018 por el servicio de emergencia del Hospital Base III de la Red Asistencial de EsSalud en Juliaca refiriendo que tuvo durante 5 días vómitos, ausencia de eliminación de gases y heces, distensión y dolor abdominal. Este paciente tiene como antecedente que 14 años atrás fue sometido a sigmoidectomía por vólvulo de sigmoides con resección y anastomosis termino-terminal primaria con evolución post operatoria tórpida. Después de 4 años de este procedimiento, fue operado por estenosis de boca anastomótica, 3 años después fue intervenido por bridas y adherencias. En esta última intervención, el hallazgo intraoperatorio más resaltante fue dilatación marcada de todo el marco colónico sin una causa orgánica obstructiva evidente, lo que llevó a la realización de una colectomía total. Del 2018 al 2023, el paciente ha presentado distensión abdominal persistente, deposiciones líquidas habituales y cuadros sub-obstructivos recurrentes. Se relaciona el cuadro clínico compatible con CIPO, y hasta la actualidad se ha manejado médicamente.

Los hallazgos de microscopía de la pieza quirúrgica del colon muestran una mucosa colónica con cambios inflamatorios moderados, y submucosa con leve edema sin inflamación. La capa muscular presenta alteraciones hipertróficas alternada con otras atróficas que se alternan entre la capa circular interna, y la longitudinal externa. Presencia de plexo mientérico con presencia de escasas células ganglionares en las áreas más atróficas con una densidad de 0,25 HPF. La serosa no muestra ni inflamación. La tinción con Calretinina muestra una fuerte tinción en células ganglionares.

El análisis del microbioma revela que el enterotipo predominante es *Prevotella*, mientras que el filo abundante es *Firmicutes*, con una abundancia relativa de 62.5% y una riqueza de 84 géneros. La relación *Firmicutes/Bacteroidetes* es de 4.4, con una abundancia relativa de Proteobacterias de 3.0%. La abundancia relativa de bacterias asociadas a flavonoides es de 14.9%.

Caso 2

El segundo caso se trata de un varón de 51 años, procedente de un distrito rural de la provincia de Azángaro, departamento de Puno. Ingresó el 17 de enero del 2021 por servicio de emergencia en la clínica Monte Sinaí en Juliaca refiriendo que tuvo durante 5 horas vómitos, ausencia de eliminación de gases y heces, ruidos hidroaéreos incrementados con timbre metálico, distensión y dolor abdominal tipo cólico. Este paciente tiene como antecedente que 8 años atrás fue intervenido quirúrgicamente por vólvulo de sigmoides. El diagnóstico de ingreso en este último episodio fue obstrucción mecánica intestinal de ángulo esplénico, según el estudio tomográfico. Los hallazgos intraoperatorios relevantes fueron una rotación de 360 grados en eje antihorario del asa colónica transversa y del ángulo esplénico, los cuales se encontraban viables al momento de la cirugía, y el marco colónico restante dilatado con un diámetro mayor a 14 cm., por lo que el paciente fue sometido a una colectomía total y a una anastomosis íleo-rectal latero-terminal. El paciente evolucionó en forma tórpida, con cuadros sub-obstructivos agudos recurrentes, teniendo por más de 5 días vómitos e intolerancia a la ingesta de alimentos, así como deposiciones líquidas frecuentes permaneciendo hospitalizado por 15 días. Los estudios de laboratorio no revelaron alteraciones hidroelectrolíticas, y las placas radiográficas y la tomografía helicoidal multicorte postoperatoria fueron compatibles con ACPO, por lo que se inició tratamiento médico con neostigmina en dosis habituales, con mejoría parcial. El paciente solicitó su alta médica por asuntos económicos. En el seguimiento post alta nos fue informado que falleció en su comunidad 10 días después del alta médica. El último diagnóstico de este paciente fue dolicomegacolon.

Los hallazgos en microscopía de la pared del colon muestran una mucosa colónica con leve infiltrado inflamatorio sin cambio en su arquitectura, y submucosa con leve fibrosis. La capa muscular presenta hipertrofia en la capa circular interna además de áreas de atrofia, fibrosis y áreas de ausencia de la capa longitudinal externa. Se observa la presencia de plexos ganglionares con una densidad de 1HPF de células ganglionares. Adicionalmente, la tinción con Calretinina muestra una fuerte tinción en células ganglionares.

El análisis del microbioma revela que el enterotipo predominante es *Bacteroides*, mientras que el filo abundante es *Proteobacterias*, con una abundancia relativa de 49.3% y una riqueza de 123 géneros. La relación *Firmicutes/Bacteroidetes* es de 5.7. La abundancia relativa de bacterias asociadas a flavonoides es de 7.7%.

Caso 3

El tercer caso se trata de un varón de 58 años procedente de Juliaca. Ingresó el 12 de enero 2023 por servicio de emergencia al Hospital Base III de la Red Asistencial de EsSalud en Juliaca presentando un cuadro obstructivo. Este paciente tiene como antecedente que 13 años atrás fue sometido a una sigmoidectomía por vólvulo de sigmoides. Esta cirugía evolucionó durante 5 años de forma tórpida con cuadros sub-obstructivos recurrentes. Debido a esto, el paciente es sometido a una colectomía total y una anastomosis íleo-recto hace 8 años presentando buena evolución hasta su último control hospitalario. El caso se diagnostica compatible con CIPO. El paciente ha evolucionado favorablemente hasta la fecha.

Los hallazgos en microscopía de la pared de colon muestran una mucosa colónica sin cambios inflamatorios y submucosa con edema y congestión. La capa muscular presenta cambios hipertróficos segmentarios. La capa serosa muestra signos de congestión con infiltrado inflamatorio agudo. Se observa la presencia del plexo mientérico con escasa presencia de células ganglionares con una densidad de 1HPF.

El análisis del microbioma revela que el enterotipo predominante es *Bacteroides*, mientras que el filo abundante es *Proteobacterias*, con una abundancia relativa de 55.2% y una riqueza de 52 géneros. La relación *Firmicutes/Bacteroidetes* es de 2.4. La abundancia relativa de bacterias asociadas a flavonoides es de 1.9%.

Caso 4

El cuarto caso se trata de un paciente varón de 74 años, procedente de Juliaca. Ingresó el 12 de abril del 2023 por servicio de emergencia al Hospital Base III de la Red Asistencial de EsSalud en Juliaca presentando un cuadro clínico compatible con vólvulo de sigmoides. Adicionalmente, este paciente es portador de la enfermedad de Parkinson. Se realizó una sigmoidectomía y anastomosis termino-terminal primaria. El hallazgo operatorio más resaltante fue la dilatación masiva del marco colónico de 15 cm. de diámetro. Al tercer día postoperatorio, presentó un cuadro clínico compatible con ACPO, rebelde al tratamiento médico con Neostigmina, por lo que fue re-operado de emergencia al cuarto día, realizándose una cecostomía con éxito y teniendo una buena evolución postoperatoria. El paciente se mantiene con su ostomía permeable hasta la fecha y cursa con cuadro depresivo por el difícil manejo de la ostomía. Es candidato a colectomía total en el futuro.

Los hallazgos en microscopía de la pared de colon muestran una mucosa colónica sin cambios inflamatorios y submucosa con leve edema sin cambios inflamatorios. La capa muscular presenta cambios hipertróficos leves predominantemente en la capa circular interna, y la capa longitudinal externa presenta cambios atróficos. Se observa la presencia del plexo mientérico con escasa presencia de células ganglionares con una densidad de 2HPF. Adicionalmente, la tinción con Calretinina muestra una débil tinción en fibras y células ganglionares.

El análisis del microbioma revela que el enterotipo predominante es *Prevotella*, mientras que el filo abundante es *Firmicutes*, con una abundancia relativa de 69.3% y una riqueza de 87 géneros. La relación *Firmicutes/Bacteroides* es de 3.4, con una abundancia relativa de Proteobacterias de 3.3%. La abundancia relativa de bacterias asociadas a flavonoides es de 7.6%.

Caso 5

El quinto caso se trata de un varón de 70 años procedente de la ciudad de Juliaca. Ingreso el 12 de junio del 2023 por servicio de emergencia al Hospital Base III de la Red Asistencial de EsSalud en Juliaca refiriendo que tuvo 3 días de vómitos, falta de eliminación de gases y heces, distensión y dolor abdominal tipo cólico. Este paciente tiene como antecedente una sigmoidectomía por vólvulo de sigmoides realizada 16 años atrás, en la cual se efectuó una resección sigmoidea y anastomosis termino-terminal primaria. Al examen físico se observó franca irritación peritoneal a la descompresión digital, ruidos hidroaéreos ausentes y marcada distensión abdominal. La radiografía de abdomen simple de pie y los exámenes de rutina de laboratorio fueron compatibles con megacolon tóxico, por lo que se decidió someter a laparotomía exploratoria. El hallazgo operatorio más destacado fue dilatación de todo el marco colónico, con presencia de gas intraparietal de la pared colónica y un colon cecal balante de 20 cm. de diámetro. Se optó por realizar colectomía total y una anastomosis íleo-recto con bolsa continente. A los 14 días del post operatorio, el paciente reingresó al hospital por cuadro de ACPO, que fue manejado con Neostigmina y soporte hidroelectrolítico, logrando una mejoría sustancial del cuadro clínico.

Los hallazgos en microscopía de la pared de colon muestran una mucosa colónica sin cambios inflamatorios, y submucosa con leve edema sin señales de inflamación. La capa muscular presenta alteraciones hipertróficas leves predominantemente en la capa circular interna. Por el contrario, la capa longitudinal externa presenta alteraciones atróficas. La capa serosa no muestra alteraciones ni signos de inflamación. Se observa la presencia de plexo mientérico con escasas células ganglionares (densidad de 1 HPF). Adicionalmente, la tinción con Calretinina muestra una débil tinción en células ganglionares.

El análisis del microbioma revela que el enterotipo predominante es *Prevotella*, mientras que el filo abundante es *Firmicutes*, con una abundancia relativa de 71.8% y una riqueza de 110 géneros. La relación *Firmicutes/Bacteroides* es de 8.3, con una abundancia relativa de Proteobacterias de 3.6%. La abundancia relativa de bacterias asociadas a flavonoides es de 7.9%.

Caso 6

El sexto caso pertenece a una mujer de 21 años, procedente de un área rural del distrito de Cabanillas, del departamento de Puno. Ingresó por servicio de emergencia a la clínica Monte Sinaí en Juliaca el 18 de diciembre del 2023, refiriendo que tuvo 2 días de ausencia de eliminación de heces y gases, compromiso del estado general, distensión y dolor abdominal. Como antecedente la madre refiere que la paciente a los 3 años presentó un cuadro obstructivo intestinal que fue resuelto con medidas caseras y desde entonces cursa habitualmente con cuadros de distensión abdominal y estreñimiento sin otras complicaciones que hayan requerido atención médica por obstrucción intestinal. Adicionalmente, la paciente indica que su alimentación se basa en productos con elevado contenido de fibra como el maíz, trigo, quinua y escaso consumo de alimentos proteicos. Tras la observación de imágenes radiológicas que indicaban obstrucción intestinal, la paciente fue sometida a una laparotomía exploratoria. El hallazgo operatorio fue un dolicomegacolon extremo, con un diámetro de colon que a nivel cecal supera los 18 cm. Se realizó una colectomía total y una anastomosis íleo-lateral. En el post operatorio, la paciente cursó de manera tórpidamente, con cuadros equivalentes a ACPO y enteritis, los cuales fueron superados con tratamiento médico de probióticos. Además, presentó insuficiencia renal aguda, hiperkalemia y uremia aguda, lo que culminó en una falla orgánica múltiple, siendo esta la causa de su fallecimiento.

Los hallazgos en microscopía de la pared de colon muestran una mucosa colónica sin cambios inflamatorios y submucosa con edema leve sin cambios inflamatorios significativos. La capa muscular presenta alteraciones hipertróficas segmentarias. La capa serosa no muestra presencia de alteraciones. Se observa la presencia de plexo mientérico con células ganglionares disminuidas en las áreas atróficas con una densidad de 1.75 HPF. Finalmente, la tinción con Calretinina muestra una débil tinción en fibras nerviosas y células ganglionares.

El análisis del microbioma revela que el enterotipo predominante es *Prevotella*, mientras que el filo abundante es *Firmicutes*, con una abundancia relativa de 67.3% y una riqueza de 133 géneros. La relación *Firmicutes/Bacteroides* es de 4.4, con una abundancia relativa de

Proteobacterias de 3.6%. La abundancia relativa de bacterias asociadas a flavonoides es de 11.0%.

Discusión y conclusiones

Este estudio presenta una serie de casos de 6 pacientes peruanos con diagnóstico de ACPO y CIPO procedentes de comunidades localizadas en la zona altoandina de la Región Puno al sur del Perú, ubicadas a más de 3800 msnm. Este es el primer estudio en los Andes peruanos que reporta hallazgos histopatológicos de muestras de colon obtenidas quirúrgicamente e información de la composición del microbioma intestinal obtenidos por secuenciamiento del gen 16S rARN.

La literatura científica reporta una incidencia estimada de 100 casos por cada 100,000 admisiones para ACPO con un 95% de casos asociados a una condición subyacente de tipo operatorio o no operatoria en pacientes hospitalizados o internados de edad media y adultos mayores [23]. En este estudio reportamos cuatro de seis casos de ACPO (66.7%) como resultado de una intervención quirúrgica debido a una obstrucción colónica previa. Los casos reportados concuerdan con lo descrito en la literatura a excepción de una paciente joven de 23 años con desenlace fatal cuya causa no está asociada a perforación o isquemia, que son las principales complicaciones y causas de mortalidad de ACPO [2,24]. Por otra parte, la prevalencia e incidencia de CIPO es desconocida en la mayoría de los países. Sin embargo, se ha reportado una prevalencia estimada anual de 0.9/100.000 habitantes en población japonesa [25] y una mortalidad de 11% de CIPO idiopática en población adulta en Italia, principalmente en mujeres [26]. En este estudio reportamos dos casos (33.3%) diagnosticados como CIPO adquirida asociados a cirugías realizadas entre 13 y 14 años antes y cuadros sub-obstructivos recurrentes, diagnóstico que es reportado comúnmente en pacientes adultos como condición secundaria a otras enfermedades [27].

Adicionalmente, las piezas anatómicas de colon de cinco pacientes mostraron ausencia de células inflamatorias en la mucosa y plexo mientérico descartando la existencia de factores de predisposición infecciosos o inflamatorios como posible causa de la pseudo obstrucción colónica observada en dichos pacientes [24]. Solamente un paciente presentó un proceso inflamatorio moderado en mucosa, sugiriendo la existencia de un factor de predisposición existente como consecuencia de las recurrentes intervenciones quirúrgicas detalladas en el historial clínico del paciente. La submucosa en todos los pacientes presentaba edema leve, en la capa muscular principalmente se observaron alteraciones hipertróficas leves en la capa circular interna alternadas con alteraciones atróficas o ausencia de la capa longitudinal externa en la mitad

pacientes. Los pacientes que presentaron hipertrofia muscular moderada de la circular interna podría interpretarse como reacción hística adaptativa frente al daño hístico del sistema nervioso entérico y las células gliales, fenómeno de Gliosis concordante con los hallazgos reportados para hipoganglioneosis [3]. Adicionalmente, la inmunotinción con Calretinina muestra una disminución en el número de células ganglionares en todos los pacientes observándose una densidad entre 0.27 y 10.19 células ganglionares/mm². Estos hallazgos muestran una disminución en comparación con la densidad normal de células ganglionares reportadas en otros estudios, como 21.88 células ganglionares/mm² [28] y 12.5 células ganglionares/cm en el plexo mientérico [29]. Según la clasificación de Taguchi, podemos inferir que los casos reportados en nuestro estudio presentan hipoganglioneosis colónica adquirida, la cual fue observada en pacientes con obstrucción intestinal funcional y anomalías en los ganglios intestinales con reducción difusa en el número de células ganglionares en todo el colon (media de 9.1 células/cm) [30].

El análisis del microbioma reveló que el enterotipo predominante fue *Prevotella* en 4 de 6 pacientes y *Bacteroides* en 2 de 6 pacientes. Los perfiles microbianos mostraron que los filos predominantes fueron *Firmicutes* (con un rango de 30 y 92 especies) y Bacteroidetes (con un rango de 9 y 20 especies) en cuatro de los seis pacientes. Los pacientes con el enterotipo *Bacteroides* presentaron como filo predominante Proteobacterias.

Se ha propuesto que la prevalencia de Proteobacterias podría ser una posible firma diagnóstica de disbiosis y un indicador de riesgo de enfermedad [20]. Este incremento que también ha sido observado en ratones de experimentación a los cuales se les administró cocaína por vía intraperitoneal, lo que resultó en una subsecuente alteración en la homeostasis intestinal [31]. Cabe mencionar como parte de los antecedentes que 4 de los 6 pacientes realizan la práctica tradicional andina de masticación de hojas de coca [32], que podría estar relacionado con el incremento de Proteobacterias y la alteración de la homeostasis microbiana intestinal observada en estos pacientes. El perfil microbiano de estos pacientes muestra una disminución en Clostridia en aquellos que consumían hoja de coca, y un incremento en la familia Coriobacteriacea, la cual está involucrada en el metabolismo de polifenoles [33]. Asimismo, se observa un incremento en *Akkermansia* y *Faecalibacterium* en algunos pacientes, bacterias prebióticas que incrementan su crecimiento en presencia de polifenoles [33]. Por otro lado, no se observaron aumentos en los géneros *Prevotella*, *Lactobacillus*, ni *Bifidobacterium*, como fue reportado en otros estudios [34,35].

No obstante, algunos estudios destacan los posibles beneficios del consumo de hojas de coca debido a los polifenoles que contiene [36], ya que pueden ayudar a mantener la salud intestinal al preservar el equilibrio microbiano, fomentando el crecimiento de bacterias beneficiosas (como lactobacilos y bifidobacterias) e inhibiendo bacterias patógenas [34,35]. Además, algunas investigaciones han revelado que la fermentación colónica de los carbohidratos no digeribles aumenta la absorción de minerales como el calcio, el magnesio y el hierro [36]. Por lo tanto, no podemos inferir si el consumo crónico de hojas de coca en estos pacientes tuvo un efecto benéfico o perjudicial, debido a los cuadros descritos, siendo necesario realizar estudios de asociación para determinar dicha relación asociativa y/o causal.

Adicionalmente, en nuestro estudio todos los pacientes provienen de zonas rurales altoandinas ubicadas a más de 3800 m.s.n.m., donde la población se encuentra fuertemente asociada a condiciones de pobreza extrema y desnutrición condicionada por la dieta [32]. La adaptación por vivir a gran altitud conlleva al desarrollo de cambios en el genoma humano que no solo mejoran la respuesta a la hipoxia, la radiación y la inflamación, sino también incluyen cambios en la composición de la microbiota intestinal. Se ha reportado que vivir en la altura está relacionada a una mayor proporción de Firmicutes en comparación con *Bacteroides* [37]. Nuestro estudio corrobora este resultado al reportar una relación entre 3.4 y 8.3 Firmicutes/Bacteroidetes. Así mismo, se ha reportado un incremento en el filo Proteobacteria sin alterar la relación Firmicutes/Bacteroidetes como se encontró en nuestro estudio [38]. La predominancia del enterotipo *Prevotella* puede estar relacionado a la dieta en altura, condicionando un incremento en la producción de ácidos grasos de cadena corta, lo que repercute en la producción de energía metabólica suplementaria, beneficiando al huésped para mantener la homeostasis energética intestinal [37].

Consideramos que la relación Firmicutes/*Bacteroidetes*, así como el enterotipo *Bacteroides*, varía en relación con la abundancia de bacterias del filo Proteobacteria. Sin embargo, sugerimos realizar estudios más profundos para determinar una relación asociativa entre los factores reportados en este estudio. Este trabajo abre una puerta importante para profundizar en el estudio del síndrome de pseudoobstrucción a nivel poblacional. La realización de este tipo de estudios en poblaciones geográficas específicas es crucial, ya que podría influir significativamente en futuras investigaciones y decisiones clínicas, permitiendo un abordaje más preciso y adaptado a las necesidades de estas comunidades o grupos poblacionales con similares características.

Limitaciones

Este estudio tiene como limitaciones la posible existencia de casos subdiagnosticados de pseudoobstrucción intestinal debido a los problemas de acceso a los servicios de salud en las comunidades altoandinas del país, una situación que se agrava por las significativas brechas en el sistema sanitario del Perú. Además, la dieta tradicional de la región altoandina difiere notablemente de las dietas urbanas, lo que podría influir en el perfil del microbioma de manera que no se observa en otras regiones. Se necesitan estudios más profundos para determinar la prevalencia, el riesgo y las posibles razones asociadas al desarrollo de la pseudoobstrucción intestinal en la población de la zona altoandina del sur del Perú, con el fin de prevenir el desarrollo de ACPO y CIPO.

Abreviaciones

ACPO: Acute Colonic Pseudo-Obstruction / Pseudo-Obstrucción Colónica Aguda; CIPO: Chronic Intestinal Pseudo-Obstruction / Pseudo-Obstrucción Colónica Crónica; H&E: Hematoxilina – Eosina; HPF: High Power Field / Campo de Alta Potencia.

Agradecimientos

Nos gustaría expresar nuestro agradecimiento a Fernando Arévalo Suárez por su invaluable ayuda con el procesamiento y lectura de las muestras utilizadas en este estudio, y a Yuriko Yui Gomez por su meticulosa revisión del manuscrito.

Contribución de los autores

DLZ, KA, RS: análisis de los hallazgos clínicos del paciente, revisión de la literatura médica y redacción y revisión del informe del caso. DLZ, RS, KA: supervisión directa durante la elaboración y revisión del reporte de caso, revisión de literatura médica. KA, RS, DLV: revisión de la literatura médica y revisión del informe del caso. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final.

Financiamiento

Autofinanciado.

Disponibilidad de datos y materiales

El intercambio de datos no es aplicable a este artículo ya que no se generaron ni analizaron conjuntos de datos durante el estudio actual.

Declaración

Aprobación ética y consentimiento de participación

Esta serie de casos fue aprobada por el Comité Institucional de Ética en Investigación del Hospital III, Red Asistencial Juliaca (protocolo N°067 GRAJUL-ESSALUD-2023). Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los pacientes para publicar este informe de caso y las imágenes que lo acompañan.

Ethics approval and consent to participate

This case series was approved by the Institutional Research Ethics Committee of Hospital III, Juliaca Assistance Network (protocol N°067 GRAJUL-ESSALUD-2023). Written informed consent was obtained from the patients to publish this case report and any accompanying images. A copy of the written consent is available for review by the Editor-in-Chief of this journal.

Consentimiento para publicación

Los pacientes su consentimiento informado por escrito para la publicación de este informe de caso y las imágenes que lo acompañan. El editor jefe de esta revista cuenta con copia del consentimiento para revisión.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

References:

1. Holland AM, Bon-Frauches AC, Keszthelyi D, Melotte V, Boesmans W. The enteric nervous system in gastrointestinal disease etiology. *Cell Mol Life Sci.* 2021;78:4713–33.
2. Saunders MD, Kimmey MB. Systematic review: acute colonic pseudo-obstruction. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;22:917–25.
3. Pan Z-P, Huang L-Q, Cui J-H. Acquired segmental sigmoid hypoganglionosis: A case report. *Medicine.* 2020;99:e18803.
4. Haj M, Haj M, Rockey DC. Ogilvie's syndrome: management and outcomes. *Medicine.* 2018;97:e11187.
5. Martínez Pizarro Sandra. Síndrome de Ogilvie. *Revista Clínica de Medicina de Familia.* 2021;14:pp.31-33.
6. Velázquez GB, Patiño SL, Ortega LDB. Síndrome de Ogilvie: Conceptos actuales en diagnóstico y tratamiento. 2011;17:pp 17-24.
7. Alexandra Antonucci, Lucia Fronzoni, Laura Cogliandro, Rosanna F Cogliandro, Carla Caputo, Roberto De Giorgio, et al. Chronic intestinal pseudo-obstruction. 2008. 14:2953–61.
8. Song EM, Kim JW, Lee S-H, Chang K, Hwang SW, Park SH, et al. Colonic Pseudo-obstruction With Transition Zone: A Peculiar Eastern Severe Dysmotility. *J Neurogastroenterol Motil.* 2019;25:137–47.
9. De Giorgio R, Sarnelli, G, Corinaldesi, R, Stanghellini, V. Advances in our understanding of the pathology of chronic intestinal pseudo-obstruction. *Gut.* 2004;53:1549–52.
10. Maciel-Fiuza MF, Muller GC, Campos DMS, Do Socorro Silva Costa P, Peruzzo J, Bonamigo RR, et al. Role of gut microbiota in infectious and inflammatory diseases. *Front Microbiol.* 2023;14:1098386.
11. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal.* 2017;474:1823–36.
12. Singh R, Zogg H, Wei L, Bartlett A, Ghoshal UC, Rajender S, et al. Gut Microbial Dysbiosis in the Pathogenesis of Gastrointestinal Dysmotility and Metabolic Disorders. *J Neurogastroenterol Motil.* 2021;27:19–34.
13. Janssens Y, Nielandt J, Bronselaer A, Debunne N, Verbeke F, Wynendaele E, et al. Disbiome database: linking the microbiome to disease. *BMC Microbiol.* 2018;18:50.
14. Vicentini FA, Keenan CM, Wallace LE, Woods C, Cavin J-B, Flockton AR, et al. Intestinal microbiota shapes gut physiology and regulates enteric neurons and glia. *Microbiome.* 2021;9:210.
15. De Vadder F, Grasset E, Mannerås Holm L, Karsenty G, Macpherson AJ, Olofsson LE, et al. Gut microbiota regulates maturation of the adult enteric nervous system via enteric serotonin networks. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018;115:6458–63.

16. Yarandi SS, Kulkarni S, Saha M, Sylvia KE, Sears CL, Pasricha PJ. Intestinal Bacteria Maintain Adult Enteric Nervous System and Nitrergic Neurons via Toll-like Receptor 2-induced Neurogenesis in Mice. *Gastroenterology*. 2020;159:200-213.e8.

17. Hasan N, Yang H. Factors affecting the composition of the gut microbiota, and its modulation. *PeerJ*. 2019;7:e7502.

18. Jandhyala SM. Role of the normal gut microbiota. *WJG*. 2015;21:8787.

19. Cresci GA, Bawden E. Gut Microbiome: What We Do and Don't Know. *Nut in Clin Prac*. 2015;30:734-46.

20. Shin N-R, Whon TW, Bae J-W. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends in Biotechnology*. 2015;33:496-503.

21. Borrego-Ruiz A, Borrego JJ. Human gut microbiome, diet, and mental disorders. *Int Microbiol* [Internet]. 2024 [cited 2024 May 24]; Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s10123-024-00518-6>

22. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol Rev*. 2010;90.

23. Wells CI, O'Grady G, Bissett IP. Acute colonic pseudo-obstruction: A systematic review of aetiology and mechanisms. *WJG*. 2017;23:5634.

24. Bernardi M, Warriar S, Lynch AC, Heriot AG. Acute and chronic pseudo-obstruction: a current update. *ANZ Journal of Surgery*. 2015;85:709-14.

25. Iida H, Ohkubo H, Inamori M, Nakajima A, Sato H. Epidemiology and Clinical Experience of Chronic Intestinal Pseudo-Obstruction in Japan: A Nationwide Epidemiologic Survey. *Journal of Epidemiology*. 2013;23:288-94.

26. Stanghellini V, Cogliandro RF, De Giorgio R, Barbara G, Morselli-labate AM, Cogliandro L, et al. Natural History of Chronic Idiopathic Intestinal Pseudo-Obstruction in Adults: A Single Center Study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2005;3:449-58.

27. Chang-Zhen Z, Hong-Wei Z, Hong-Wei L, Feng W, Yuan-Xin L. Latest developments in chronic intestinal pseudo-obstruction. *WJCC*. 2020;8:5852-65.

28. Meier-Ruge W, Brunner L, Engert J, Heminghaus M, Holschneider A, Jordan P, et al. A Correlative Morphometric and Clinical Investigation of Hypoganglionosis of the Colon in Children. *Eur J Pediatr Surg*. 1999;9:67-74.

29. Fujiya K, Chong J-M, Ando M, Akita H, Fukuda A, Nagahama T, et al. Sigmoid volvulus is associated with a decrease in enteric plexuses and ganglion cells: a case-control study. *Int J Colorectal Dis*. 2015;30:673-8.

30. Taguchi T, Masumoto K, Ieiri S, Nakatsuji T, Akiyoshi J. New classification of hypoganglionosis: congenital and acquired hypoganglionosis. *Journal of Pediatric Surgery*. 2006;41:2046-51.

31. Chivero ET, Ahmad R, Thangaraj A, Periyasamy P, Kumar B, Kroeger E, et al. Cocaine Induces Inflammatory Gut Milieu by Compromising the Mucosal Barrier Integrity and Altering the Gut Microbiota Colonization. *Sci Rep.* 2019;9:12187.
32. Negrete, Juan. Coca leaf chewing: a public health assessment. *British Journal of Addiction.* 1978;73:283–90.
33. Tomás-Barberán FA, Selma MV, Espín JC. Interactions of gut microbiota with dietary polyphenols and consequences to human health. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care.* 2016;19:471–6.
34. Dueñas M, Muñoz-González I, Cueva C, Jiménez-Girón A, Sánchez-Patán F, Santos-Buelga C, et al. A survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols. *BioMed Research International.* 2015;2015:1–15.
35. Etxeberria U, Fernández-Quintela A, Milagro FI, Aguirre L, Martínez JA, Portillo MP. Impact of Polyphenols and Polyphenol-Rich Dietary Sources on Gut Microbiota Composition. *J Agric Food Chem.* 2013;61:9517–33.
36. Trigo-Pérez K, Suárez-Cunza S. Evaluación del efecto del consumo de hoja de coca pulverizada en marcadores de recambio óseo en mujeres posmenopáusicas. *Rev peru ginecol obstet.* 2018;63:519–27.
37. Liu K, Yang J, Yuan H. Recent progress in research on the gut microbiota and highland adaptation on the Qinghai-Tibet Plateau. *J of Evolutionary Biology.* 2021;34:1514–30.
38. Andrea Quagliariello, Monica Di Paola, Sara De Fanti, Guido Alberto Gnechi Ruscone, Lucia Martinez-Priego, David Pérez-Villaroya, et al. Gut microbiota composition in Himalayan and Andean populations and its relationship with diet, lifestyle and adaptation to the high-altitude environment. *Journal of Anthropological Sciences.* 2019;97:189–208.

Figura 1. Muestras anatómo-patológicas de tejido colónico de los casos reportados. (A-E) Tinción H&E a 400X de caso 1, caso 3, caso 4, caso 5 y caso 6 (A, B, C, D, E respectivamente). (F-J) Inmunotinción en Calretinina de caso 1 (F) a 100X, caso 2, caso 3, caso 4 y caso 6 (G, H, I, J respectivamente) a 400X.

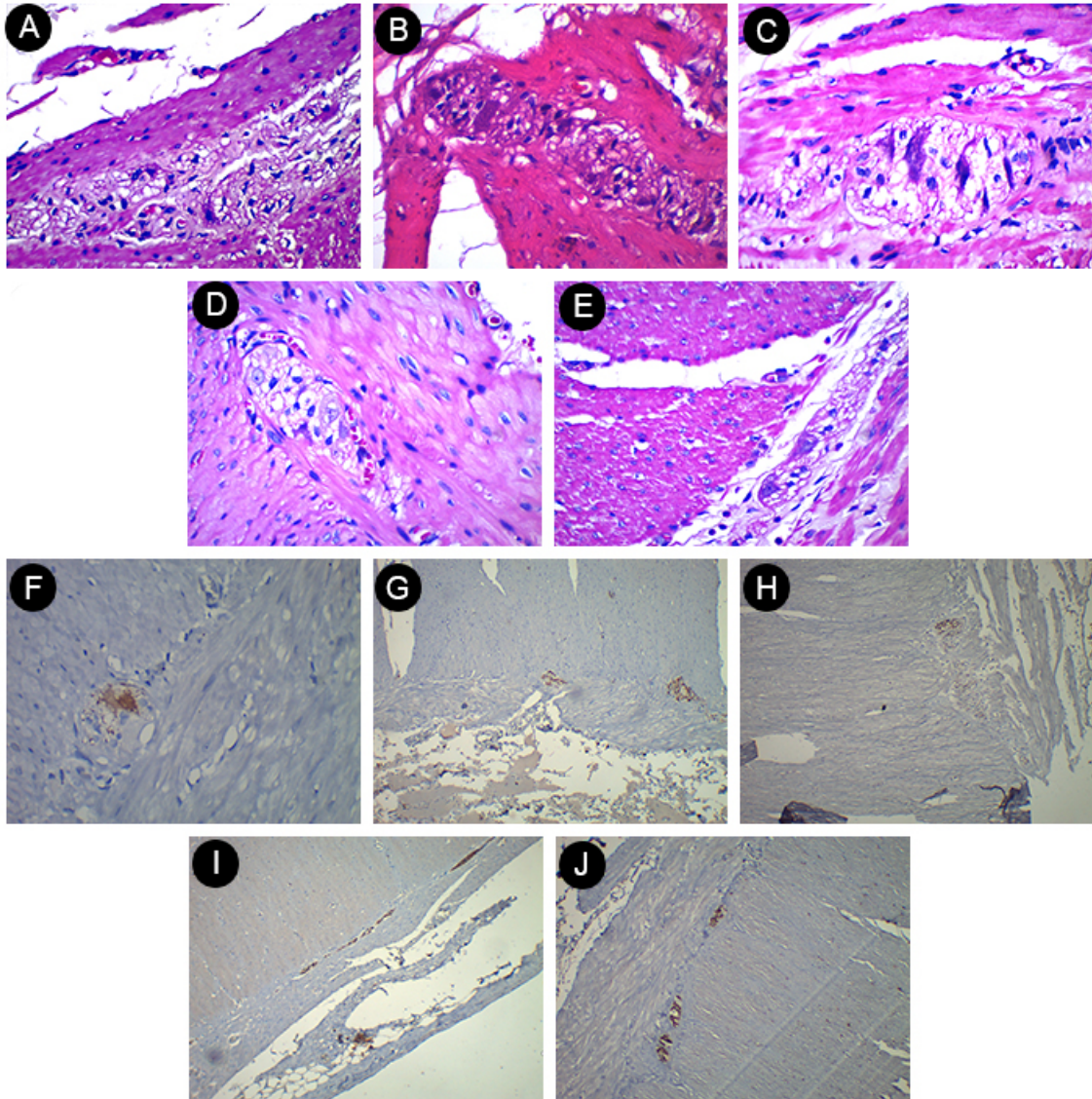


Figura 2. Perfil microbiano de los casos reportados. A) Abundancia relativa a nivel de filo B) Abundancia relativa a nivel de Genero. C) Abundancia relativa de bacterias asociadas a polifenoles en relación con el consumo de hojas de coca. * Paciente que no practica el consumo de hojas de coca.

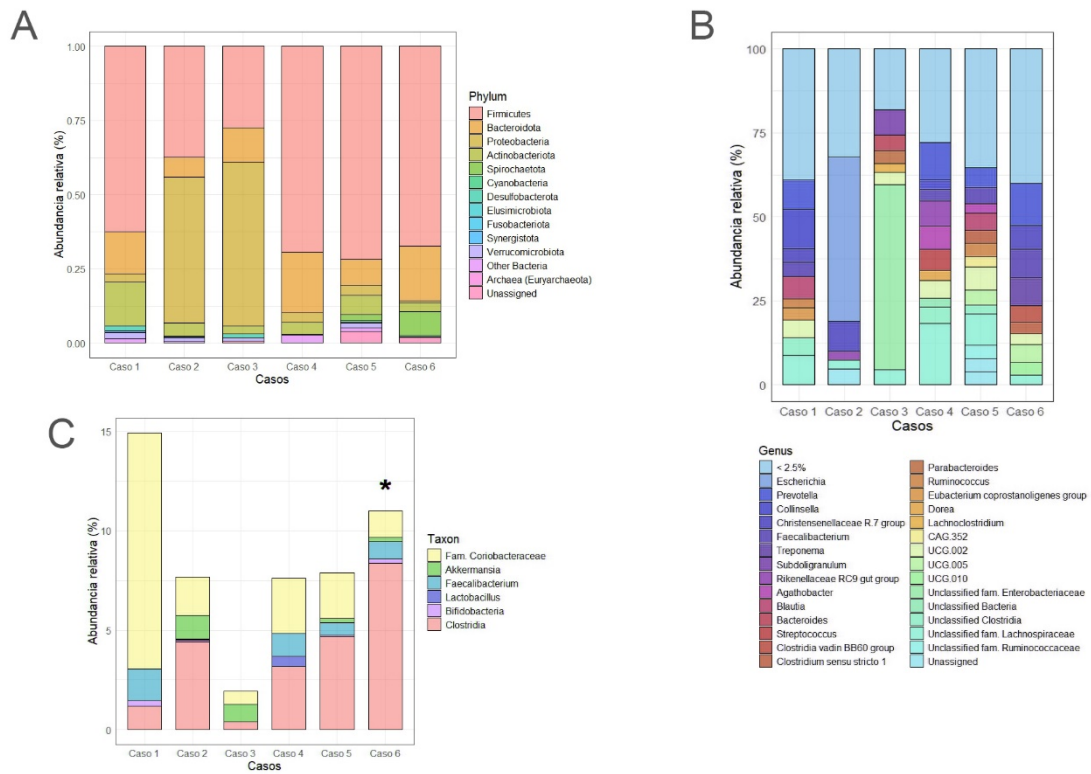


Tabla 1. Descripción de los antecedentes, resultados anatomo-patológicos y perfiles microbianos relacionados al desarrollo del ACPO y CIPO en los pacientes reportados.

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
Datos Demográficos						
Edad	39	51	58	74	70	21
Sexo	M	M	M	M	M	F
Datos Clínicos						
Diagnóstico	CIPO	ACPO	CIPO	ACPO	ACPO	ACPO
Número de cirugías	3	1	2	2	2	Múltiples
Consumo de hojas de coca	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No
Duración del trastorno (años)	14	8	13	2	16	18
Medicación	Loperamide	Neostigme	Neostigme	Neostigme	Neostigme	Neostigme
Datos Anatomo-patológicos						
Mucosa colónica						
• Cambios inflamatorios	Moderado	No	No	No	No	No
Submucosa	Leve edema	Leve fibrosis	Edema y congestión	Leve edema	Leve edema	Leve edema
Fibras nerviosas y células ganglionares	Intenso	Intenso	-	Débil	Débil	Débil
Densidad neuronal						
• (HPF)	0.25	1	1	2	1	1.75
• Células ganglionares/mm ²	1.27	5.09	5.09	10.19	5.09	8.92
Perfiles Microbianos						
Filo de bacterias predominantes (%)	Firmicutes (62.5)	Proteobacteria (49.3)	Proteobacteria (55.2)	Firmicutes (69.3)	Firmicutes (71.8)	Firmicutes (67.3)
Enterotipo predominante	<i>Prevotella</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Prevotella</i>
Relación Firmicutes Bacteroidetes	4.4	5.7	2.4	3.4	8.3	3.6
Bacterias proteolíticas (%)	3.0	49.3	55.2	3.3	3.6	0.6
Riqueza de géneros (n)	84	123	52	87	110	133
Géneros con frecuencia <2.5% (n)	48	80	36	51	56	77
Bacterias asociadas a polifenoles (%)	14.9	7.7	1.9	7.6	7.9	11.0

Este preprint fue presentado bajo las siguientes condiciones:

- Los autores declaran que son conscientes de que son los únicos responsables del contenido del preprint y que el depósito en SciELO Preprints no significa ningún compromiso por parte de SciELO, excepto su preservación y difusión.
- Los autores declaran que se obtuvieron los términos necesarios del consentimiento libre e informado de los participantes o pacientes en la investigación y se describen en el manuscrito, cuando corresponde.
- Los autores declaran que la preparación del manuscrito siguió las normas éticas de comunicación científica.
- Los autores declaran que los datos, las aplicaciones y otros contenidos subyacentes al manuscrito están referenciados.
- El manuscrito depositado está en formato PDF.
- Los autores declaran que la investigación que dio origen al manuscrito siguió buenas prácticas éticas y que las aprobaciones necesarias de los comités de ética de investigación, cuando corresponda, se describen en el manuscrito.
- Los autores declaran que una vez que un manuscrito es postado en el servidor SciELO Preprints, sólo puede ser retirado mediante solicitud a la Secretaría Editorial deSciELO Preprints, que publicará un aviso de retracción en su lugar.
- Los autores aceptan que el manuscrito aprobado esté disponible bajo licencia [Creative Commons CC-BY](#).
- El autor que presenta el manuscrito declara que las contribuciones de todos los autores y la declaración de conflicto de intereses se incluyen explícitamente y en secciones específicas del manuscrito.
- Los autores declaran que el manuscrito no fue depositado y/o previamente puesto a disposición en otro servidor de preprints o publicado en una revista.
- Si el manuscrito está siendo evaluado o siendo preparando para su publicación pero aún no ha sido publicado por una revista, los autores declaran que han recibido autorización de la revista para hacer este depósito.
- El autor que envía el manuscrito declara que todos los autores del mismo están de acuerdo con el envío a SciELO Preprints.