



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**Efectos antiinflamatorios de leches enriquecidas
en ácidos grasos omega-3 en enfermos celíacos.**

Autor: Yongfang Yin

Fecha: Julio 2019

Tutor: Francisco José Sánchez Muniz. Departamento de Nutrición y
Ciencia de los Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad
Complutense de Madrid

ÍNDICE

	Página
1. Resumen/Abstract	3
2. Introducción y antecedentes	4
3. Objetivos	11
4. Materiales y métodos	11
5. Resultados y Discusión	11
6. Conclusiones	18
Anexo	19
Bibliografía	

Abreviaturas:

AA: Ácido araquidónico

AGP: Ácidos grasos poliinsaturados

COX: ciclooxigenasa

cPLA2: fosfolipasacitosólica A2

DHA: Ácido docosaheptaenoico

EII: Enfermedad inflamatoria intestinal

EC: Enfermedad celiaca

EPA: Ácido eicosapentaenoico

HLA: Antígenos de histocompatibilidad

IELs: linfocitos intraepiteliales

iNOS: óxido nítrico sintasa

N-3: omega-3

PPAR: Receptores activados por proliferadoresperoxisomales

ROS: especies reactivas de oxígeno

tGT: Enzima tisular transglutaminasa

1. RESUMEN/ABSTRACT.

1.1 Resumen

La inflamación es una respuesta defensiva y protectora común de muchas patologías. Este proceso engloba una serie de mecanismos complejos, multitud de células, mediadores químicos e interacciones. Los ácidos grasos poliinsaturados de la familia omega-3 eicosapentaenoico y docosahexaenoico son capaces de mediar diferentes aspectos de la inflamación como la quimiotaxis de leucocitos, producción de eicosanoides, adhesión molecular, composición de fosfolípidos de membrana, modulación de la señalización inflamatoria, etc. La enfermedad celiaca es la enfermedad intestinal inflamatoria crónica más prevalente. Su tratamiento y control exigen consumir de por vida una dieta exenta de gluten. Los lácteos son alimentos bien aceptados por su calidad nutricional y sabor y permiten adicionar ingredientes con propiedades funcionales. Entre estos ingredientes destacan los ácidos grasos poliinsaturados de la familia omega-3, de reconocido papel antiinflamatorio sistémico y en algunas enfermedades intestinales, por lo que a priori constituyen una posible opción para mejorar la calidad de vida de los pacientes con EC. En este Trabajo Fin de Grado en base a palabras clave revisa la bibliografía más actual relacionada, a fin de conocer la evidencia actual del papel de estos ácidos grasos en la enfermedad celiaca y las dosis necesarias. La evidencia más relevante se resume en tablas y se comenta y discute, emitiendo al final unas conclusiones.

Palabras clave: Omega-3, DHA, leche, antiinflamatorio intestinal, enfermedad celiaca.

1.2 Abstract

Inflammation is a defensive and protective response common to many pathologies. This process encompasses a series of complex mechanisms, a multitude of cells, chemical mediators and interactions. Polyunsaturated fatty acids of the omega-3 family eicosapentaenoic and docosahexaenoic are able to mediate different aspects of inflammation such as chemotaxis of leukocytes, production of eicosanoids, molecular adhesion, composition of membrane phospholipids, modulation of inflammatory signaling, etc. Celiac disease is the most prevalent chronic inflammatory bowel disease. Its treatment and control require a gluten-free diet for life. Dairy products are well accepted because of their nutritional quality and flavor and they allow the addition of ingredients with functional properties. These ingredients include polyunsaturated fatty acids of the omega-3 family, with a recognized systemic anti-inflammatory role and in some intestinal diseases they are a possible option to improve the quality of life, such as patients with CD. In this Final Degree Project, I reviewed the most current bibliography in order to know the current evidence of the role of these fatty acids in celiac disease and the necessary doses. The most relevant evidence is summarized in tables and discussed with some conclusions at the end.

Keywords: Omega-3, DHA, milk, bowel anti-inflammatory, celiac disease.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

En este apartado se revisa de forma somera las bases etiopatológicas de la enfermedad celíaca (EC) y los mecanismos tóxicos implicados en la degeneración de la mucosa del intestino delgado. También se señalan las propiedades antiinflamatorias de los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) omega-3 (n-3) y los mecanismos implicados, con especial mención de la posible utilidad de los lácteos enriquecidos en AGP n-3.

2.1 . Enfermedad Celíaca o celiacía

La EC es un trastorno autoinmune provocado por la intolerancia a ciertas proteínas del gluten (prolaminas) con base inflamatoria en el intestino delgado y como consecuencia, produce una serie de respuestas anómalas del sistema inmunológico. En este trastorno juega un papel muy importante la predisposición genética y los factores ambientales. Las fracciones de prolaminas, son un grupo de proteínas vegetales que cumplen la función de reserva y se encuentran en el trigo, centeno, cebada, y en todas sus variedades cruzadas y también, aunque en menor cantidad en la avena (Tabla 1); los cuales, son los principales estímulos ambientales responsables de la EC. [1]

Tabla 1. Principales proteínas responsables de la celiacía.

Cereal	Prolaminas	Glutelinas
Trigo	Gliadinas	Gluteninas
Centeno	Secalinas	Secalininas
Cebada	Hordeínas	Hordeninas
Avena	Aveninas	Avenalinas

Los síntomas más característicos de esta patología en niños son: Atrofia de las vellosidades del intestino delgado e hiperplasia de las criptas. Debido a ello, se establecen defectos en la absorción y utilización de nutrientes reduciéndose de manera importante la superficie de absorción a nivel intestinal. Consecuentemente, se evidencian en esta patología cuadros de anemia, fatiga crónica, pérdida de peso, retardo en el crecimiento, diarreas, osteoporosis y una mayor predisposición al desarrollo de linfomas malignos, en cuyo caso, el riesgo de mortalidad se duplica y se sextuplica en pacientes no tratados.[1]

Sin embargo, en pacientes cuyo inicio ocurre en la etapa adulta se observa fundamentalmente una infiltración linfocítica grave pudiendo no afectarse la estructura de la mucosa intestinal, no existiendo atrofia de las vellosidades ni hiperplasia de las criptas. En la tabla 2 se resume los aspectos más relevantes de la clasificación de Marsh de especial utilidad para ayudar a conocer el grado de lesión en la evolución de la enfermedad celiaca.

Tabla 2. Clasificación del grado de avance de la enfermedad celiaca definidos por el patólogo inglés Michael N. Marsh.

Clasificación de Marsh	
Marsh 1	La estructura de las vellosidades no está alterada pero el número de IELs es >25%. No siempre es indicativo de enfermedad celiaca.
Marsh 2	La estructura de las vellosidades es normal, pero contiene criptas hiperplásicas (situadas en la base de las vellosidades), así como IELs en un número superior.
Marsh 3	Aumento del número de IELs. Hiperplasia de las criptas y atrofia de vellosidades. Esta se subdivide para diferenciar el grado de atrofia: parcial (3a), subtotal (3b) y total (3c).

IELs: linfocitos intraepiteliales. Adaptado de [2]

En la EC juega un papel muy importante la respuesta inmunitaria innata y adaptativa ante la presencia de gluten en el organismo. Se ha demostrado que la gliadina contiene secuencias de aminoácidos que tienen una gran importancia en la patogénesis ya que ejercen actividad citotóxica o inmunomoduladora (Figura 1), mientras que otras secuencias aminoácídicas pueden producir estrés oxidativo e inducir la liberación de citoquinas proinflamatorias.[3]

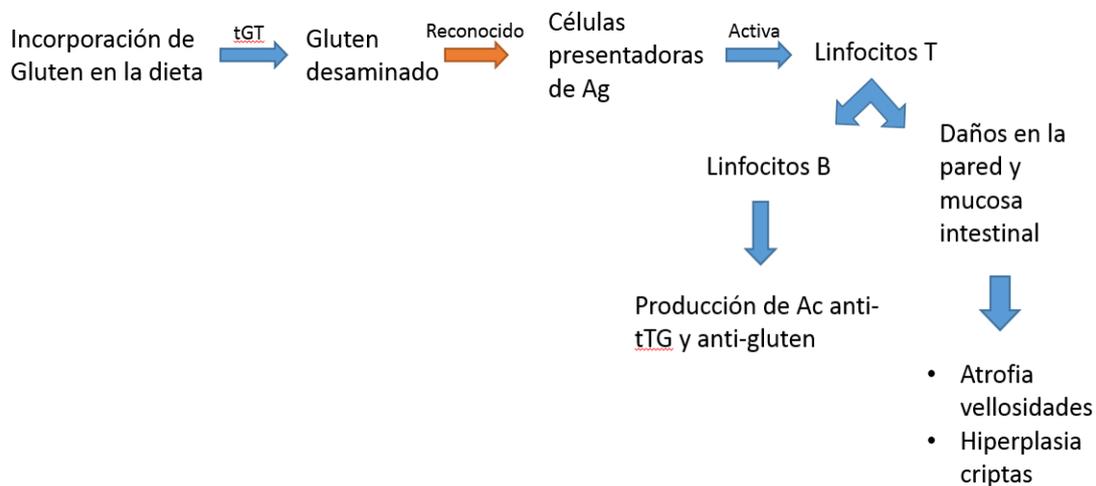


Figura 1. Mecanismo general de la activación del sistema inmunitario por la ingesta del gluten. Modificado de [4].

Mecanismos moleculares de la toxicidad del gluten

Los alimentos que ingerimos son degradados hasta estructuras capaces de ser asimilados por nuestro organismo. Las gliadinas tienen un alto contenido de prolina y glutamina en su estructura; lo que provoca que sean resistentes a la digestión. El posterior acúmulo de estos péptidos en el intestino produce efectos tóxicos en sujetos susceptibles genéticamente (Figura 2).

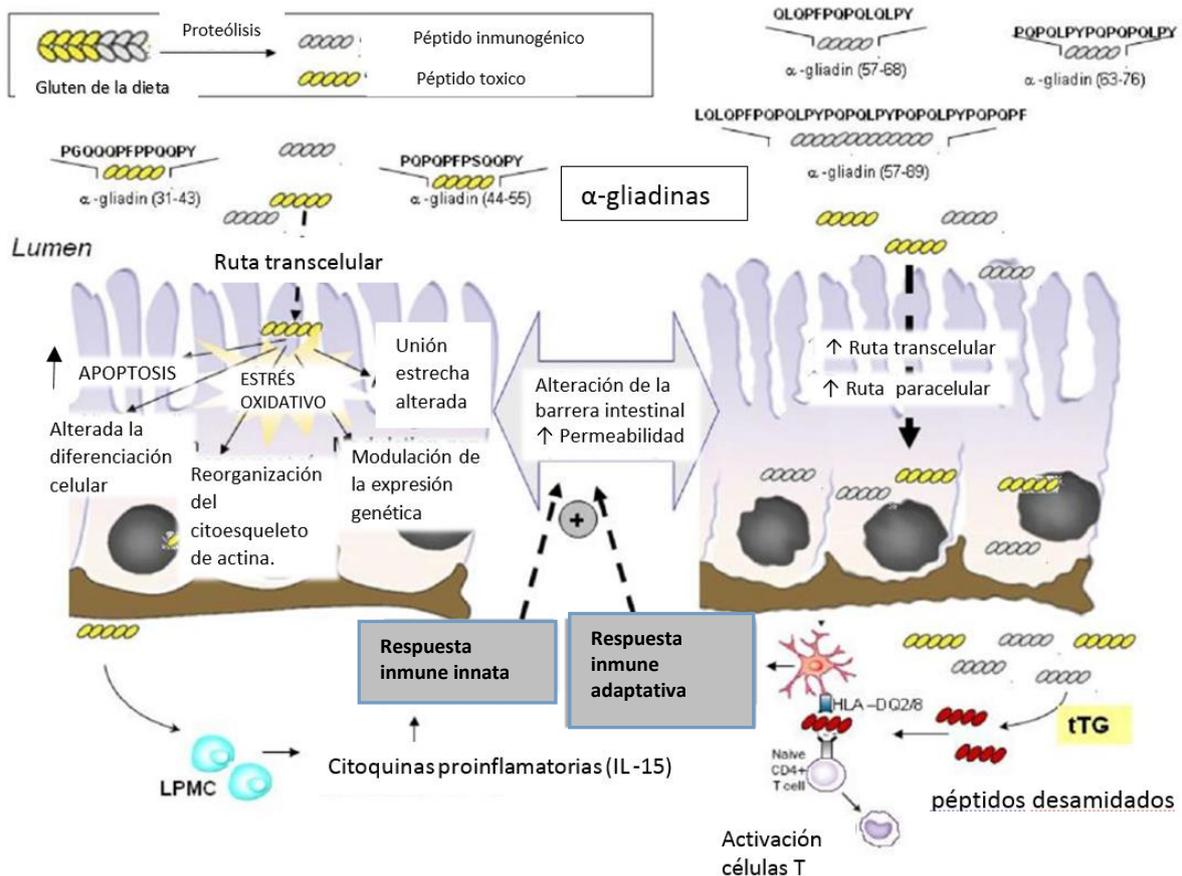


Figura 2. Daño del epitelio intestinal inducido por los péptidos "tóxicos". Se producen alteraciones en las uniones estrechas y efectos citotóxicos como apoptosis y alteración en la diferenciación celular. Todo ello se resume en una pérdida funcional y estructural de la barrera intestinal con aumento marcado de la permeabilidad. Adaptado de[3].

Muchos péptidos del gluten intervienen en la patogénesis de EC, pero cabe destacar los péptidos derivados de α-gliadinas: péptidos de Serina (citotóxicos) y péptidos de tirosina (reacciones inmunológicas.)

- *Efectos inmunomoduladores de los péptidos del gluten*

La presencia de péptidos inmunogénicos en el gluten produce una respuesta adaptativa que implica a los antígenos de histocompatibilidad (HLA) DQ2 y DQ8 y posterior activación de los linfocitos T. Estos péptidos contienen secuencias aminoacídica que son sustratos preferidos de las enzimas tisulares transglutaminasas (tTG), cuyas principales funciones son:

hidrólisis de glutamina a ácido glutámico y catálisis de enlace covalente e irreversible de glutamina con lisina formándose el complejo DQ-gluten [3]. Este complejo activa la cascada de respuesta adaptativa que se traduce en un aumento de citoquinas (especialmente IFN- γ), y este a su vez libera enzimas (como metaloproteasas) que dañan la mucosa intestinal aumentando la permeabilidad. La interacción de dichos péptidos con determinadas células específicas de la lámina propia (p.ej. macrófagos, células dendríticas) induce una respuesta innata que libera diferentes mediadores como la interleukina (IL) -15 responsables de la hiperplasia de las criptas [3].

- *Efecto estrés oxidativo del gluten*

Algunos péptidos (α -gliadinas) tienen la capacidad de penetrar dentro de las células por endocitosis acumulándose así en los lisosomas. Son capaces de activar algunas vías de señalización de transducción y provocar aumento de radicales libres. [3]

El estrés oxidativo que producen se basa en el aumento de los niveles de productos de oxidación lipídica, aumento de glutatión oxidado frente al reducido y a una disminución de grupos sulfhidrilos unidos a proteínas, aumento de la actividad de óxido nítrico sintasa (iNOS) (Figura 3). Todo ello se traduce en alteración morfológica de las células, proliferación, apoptosis y pérdida de viabilidad de los enterocitos.

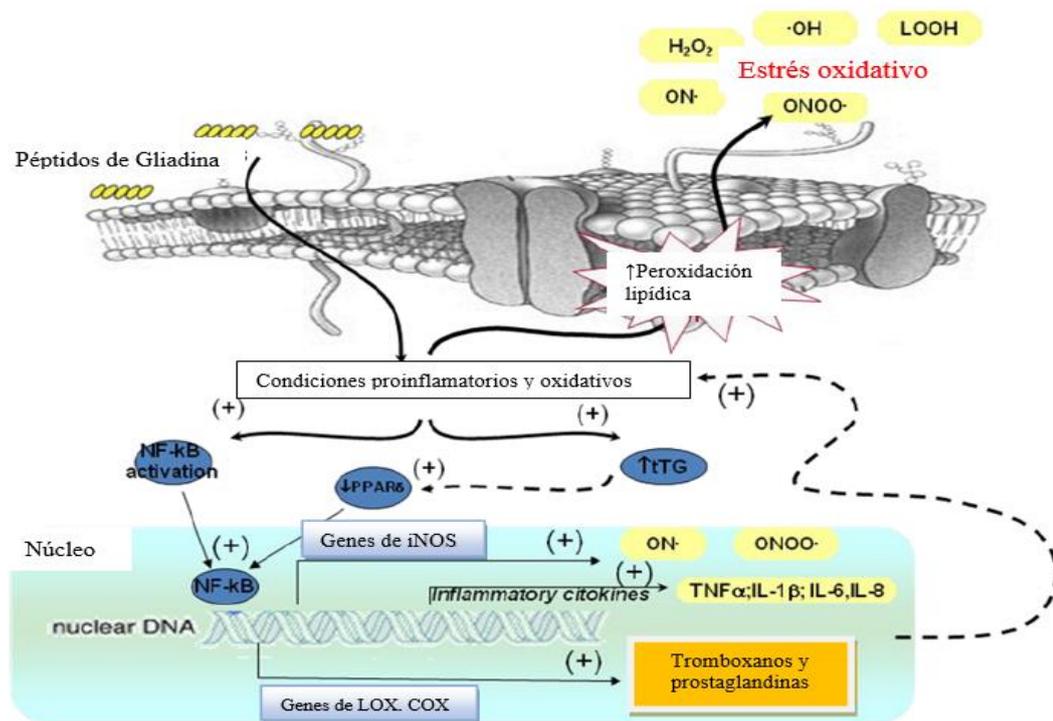


Figura 3. Efecto del gluten en estrés oxidativo y expresión de genes. La activación del factor de transcripción NF- κ B induce a la expresión de citoquinas proinflamatorias y activación de ciclooxigenasa (COX)-2 e óxido nítrico sintasa (iNOS); luego, la regulación negativa de PPAR γ , a su vez también activa a NF- κ B, son las causas que desencadena en una mayor liberación de metabolitos que contribuyen al estrés oxidativo. Modificado de [3].

- *Efectos del gluten en la expresión génica*

Numerosos estudios han demostrado que los péptidos de gliadinas son capaces de modular la expresión de diferentes genes [5]. Se ha visto que niveles incrementados de especies reactivas de oxígeno (ROS) producen una disminución de la degradación tTG, lo que provoca una regulación negativa de Receptores activados por proliferadoresperoxisomales gamma (PPAR γ) y con ello se altera el control del proceso inflamatorio; a su vez, la regulación negativa de PPAR γ puede contribuir a la activación de NF- κ B. De hecho, se ha observado un aumento en la expresión de COX-2, de la actividad de fosfolipasacitosólica A2 (cPLA2) y liberación de IL-8 en presencia de gliadinas.

Puede afirmarse que la EC es un proceso patológico permanente cuyo único tratamiento o alternativa actual es una dieta totalmente excluida de gluten [6]. No obstante, el conocimiento de las propiedades de algunos nutrientes (p. ej. AGP n-3) ha permitido que la industria alimentaria desarrolle diferentes alimentos sin gluten, con utilidad para la EC. En la actualidad conocemos que los nutrientes, a través de mecanismos nutrigenómicos, pueden modificar la expresión génica de moléculas pro-inflamatorias y antioxidantes y por tanto ser de utilidad en el control de la EC [3].

2.2. Ácidos grasos poliinsaturados omega 3

Los AGP tienen nombres sistemáticos y comunes, pero a menudo, particularmente en nutrición, se denominan teniendo en cuenta el número de átomos de carbono en la cadena, el número de dobles enlaces y la posición del primer doble enlace relativo al carbono 1. Entre las diferentes familias de AGP destaca la n-3, término "n" que define la posición del doble enlace más cercano al extremo metilo del ácido graso. Es decir el primer doble enlace respecto al metilo terminal se encuentra entre el carbono 3 y 4.

Ácido graso monoinsaturado



Oleico (omega-9)

Ácidos grasos poliinsaturados



Linoleico (omega-6)



Linolénico (omega-3)



Araquidónico (omega-6)



Eicosapentaenoico (omega-3)



Docosahexaenoico (omega-3)

Figura 4. Estructura química de los principales AG monoinsaturados y poliinsaturados. Modificado de [7], [8]

El AGP n-3 más simple es el ácido α -linolénico (18:3 n-3) y este se sintetiza a partir del ácido linoleico (18: 2n-6) por desaturación, catalizado por la enzima Δ -15 desaturasa (Figura

3). Los humanos y animales no disponen de dicha enzima, por lo que no pueden sintetizar el ácido α -linolénico, que se convierte en esencial y debe obligatoriamente ser aportado por la dieta para evitar deficiencias [7]. El ácido α -linolénico es el ácido graso madre de la familia n-3 y por tanto precursor de otros AGP n-3 como el ácido eicosapentaenoico (EPA) que se origina por acción de desaturasas y elongasas y el docosahexaenoico (DHA) se forma a partir del EPA tras una reacción de oxidación en los peroxisomas.

La reacción Δ -6 desaturasa es limitante de la velocidad en esta vía. El sustrato preferido para Δ -6 desaturasa es el ácido α -linolénico. Sin embargo, el ácido linoleico es mucho más abundante que el ácido α -linolénico en la mayoría de las dietas humanas, por lo que el metabolismo de los AGP n-6 resulta cuantitativamente más importante. Las actividades de las enzimas Δ -6 y Δ -5 desaturasas están reguladas por las hormonas, el estado nutricional, y la inhibición por retroalimentación de los productos finales. Muchos estudios han demostrado que la conversión de ácido α -linolénico en EPA, docosapentaenoico (C22:5 n-3 o DPA) y DHA es generalmente limitada en humanos. Las fuentes principales de AGP n-3 (EPA, DPA y DHA) son los pescados grasos y los mamíferos marinos.

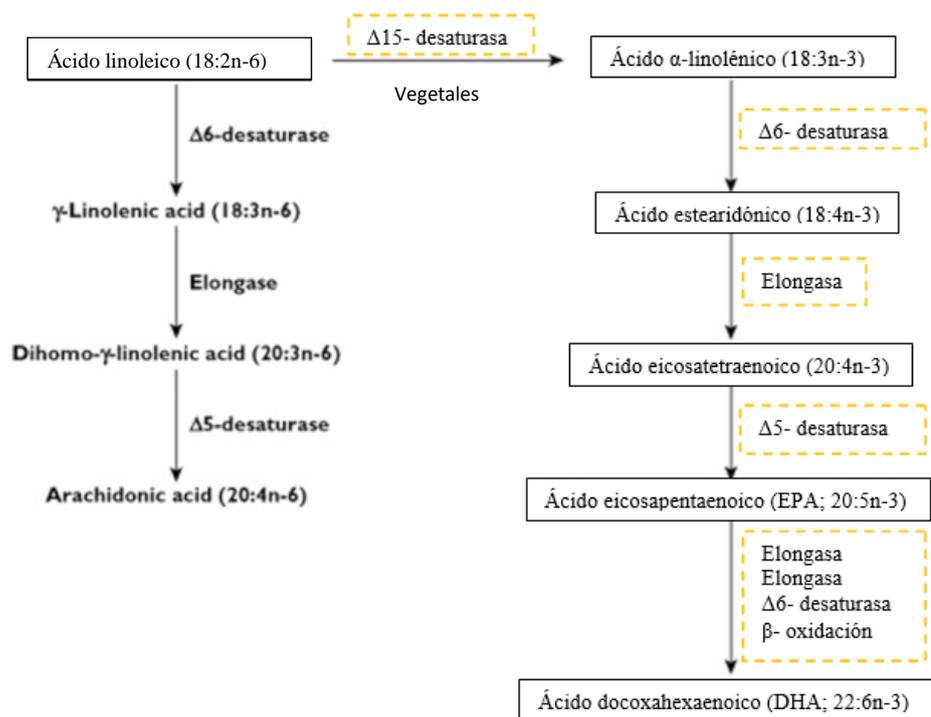


Figura 5. Síntesis de EPA y DHA a partir del ácido α -linolénico. Nótesela actuación del sistema de desaturasa-elongasa. Modificado de [7], [9].

Los AGP pueden influir en la inflamación a través de una variedad de mecanismos que implican interacción con la superficie celular y los receptores/sensores intracelulares que controlan la señalización celular inflamatoria, con actuación sobre los patrones de expresión génica [10]. Los eicosanoides producidos a partir de AGP n-6 como el ácido araquidónico (AA) tienen un papel pro-inflamatorio. Por el contrario, DHA y EPA originan eicosanoides con propiedades antiinflamatorias. A este respecto se ha observado que AGP n-3 inhiben la activación del factor de transcripción NF- κ B con la consiguiente inhibición de

la producción de citoquinas pro-inflamatorias [3], [7], [9]. El efecto antiinflamatorio de los AGP esta mediado por factores de transcripción como el PPAR γ , sensibles a los AGP y sus productos metabólicos los eicosanoides. De hecho, los AGP y sus derivados son ligandos endógenos para PPAR- γ y se ha demostrado que el PPAR- γ inducido por AGP n-3 está asociado con una reducción en la producción de citoquinas pro-inflamatorias (TNF- α e IL-6) [11].

En resumen, los AGP n-3 tienen propiedades antiinflamatorias que podrían ser de utilidad en el tratamiento de algunas enfermedades crónicas en las que la inflamación es inherente. Un aumento de la exposición a los ácidos grasos EPA y DHA genera un entorno que, además de ser menos inflamatorio, favorece la resolución de la inflamación [7].

2.3. Leches enriquecidas en AGP n-3

Los AGP n-3 han demostrado, en múltiples ocasiones, influir positivamente en la salud. Determinados productos, como es el caso de la leche, han sido objeto de estudio para su enriquecimiento con nutrientes saludables. No obstante, la legislación europea establece unos límites mínimos de AGP n-3 que dificultan el etiquetado de los productos lácteos como fuente natural de omega 3 [12].

Las declaraciones nutricionales que se pueden añadir en el etiquetado de los productos vienen reguladas por el reglamento comunitario 1924/2006, modificado por los reglamentos europeos 116/2010 y 1047/2012. Tras la modificación de 2010 se indica lo siguiente:

- Los productos etiquetados como “fuente de ácidos grasos omega-3” deben contener al menos 0,3g de ácido α -linolénico(o 40mg de EPA+DHA) por cada 100g de producto y por cada 100kcal [13].
- Los productos etiquetados como “alto contenido de ácidos grasos omega-3” deben contener al menos 0,6g de ácido α -linolénico(o 80mg de EPA+DHA) por cada 100g de producto y por cada 100kcal [13].

Este reglamento pone a las industrias alimentarias en una situación un tanto complicada; la leche comercializada como “entera” contiene 3 g de grasa por 100 g de producto [12]. Por lo tanto, al menos el 10% de la grasa de la leche debería ser ácido α -linolénico u otro AGP n-3 derivado de este. La leche líquida etiquetada como omega 3 es, normalmente, leche desnatada a la que se le añade aceite de pescado o linaza [10] mediante procesos complejos tecnológicos, como la tecnología de fluido supercrítico y/o la microencapsulación.

Otra forma de obtener una leche enriquecida en AGP n-3 es incidir en la dieta que consume los rumiantes; como puede ser, la adición de aceites vegetales ricos en ácido linoleico y α -linolénico[14]. Aunque este método tiene sus inconvenientes por las modificaciones que puede suponer una carga extra de AGP en la fisiología del animal (el exceso puede ser tóxicos para la microbiota afectando a la rumiación y fermentación de la fibra) y en los nutrientes naturales de la leche (depresión de la grasa láctea). No obstante, con las nuevas tecnologías que van surgiendo cada vez se mejora más el proceso.

3. OBJETIVOS.

El objetivo principal que se pretende cubrir en esta revisión es conocer los posibles beneficios del consumo de las leches enriquecidas en AGP n-3 sobre sujetos que padecen EC.

A lo largo del presente trabajo, se abordará el papel de los AGP n-3 en el tratamiento coadyuvante de la EC a partir de la evidencia científica disponible. También es de nuestro interés conocer cómo actúan o interaccionan estos AGP n-3, incidiendo especialmente en el papel de EPA y DHA en la inflamación intestinal.

4. MATERIALES Y MÉTODOS.

Esta memoria se ha realizado en el periodo comprendido entre los meses de Enero y de Julio (2018-2019). Se trata de una revisión bibliográfica de unos 40-50 trabajos/artículos/libros usando fuentes de información fiables y contrastadas, que en su mayoría son fuentes de información secundarias; así como la utilización de buscadores y páginas de Internet de contenido científico, concretamente “PubMed-NCBI” y “Google Académico”. Aunque también se hizo alusión a libros de carácter científico, manuales de Nutrición de la biblioteca de la Facultad de Farmacia de la UCM y revistas científicas.

Para la consulta de una gran variedad de artículos relacionados con el tema de interés en las páginas de web científicas, se ha utilizado palabras clave en los diferentes buscadores como pueden ser “ácidos grasos poliinsaturados omega 3”; “Celiacdisease”; “DHA”; “fattyacids”; “enfermedad celiaca”; “antiinflamatorio intestinal”; “inflamación”; “ácido araquidónico”; “fosfolipasa A2”.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La hipótesis que se plantea es que el consumo de AGP n-3 afecta favorablemente a los pacientes afectados de EC, modulando diferentes etapas del proceso inflamatorio intestinal:

- ✓ Neutralizan los efectos pro-inflamatorios producidos por el ácido araquidónico.
- ✓ Previenen la liberación de ácido araquidónico.
- ✓ Intervienen en la expresión de la enzima COX-2
- ✓ Intervienen en la actividad del cPLA2
- ✓ Interfieren en la liberación de prostaglandinas E2 e IL-8

La influencia de AGP n-3, en las respuestas celulares de diversos tipos de células involucradas en la inflamación y en la gran producción de mediadores químicos en este proceso, ha sido objeto de estudio durante muchos años.

Hemos resumido los estudios que creemos más importantes en la **tabla anexa 1** sobre leches enriquecidas en AGP n-3.

A continuación citaremos algunas de las interacciones que ejercen los AGP n-3 a este nivel:

- **AGP n-3 y quimiotaxis de leucocitos**

La quimiotaxis es el proceso por el cual los leucocitos son dirigidos por quimioatrayentes o quimiocinas hacia el lugar de inflamación, en respuesta al proceso inflamatorio y cumpliendo la función de mediadores inflamatorios y/o quimiotácticos.

Tabla 3. Mediadores químicos liberados por células epiteliales en procesos inflamatorios.

Mediadores inflamatorios	Mediadores quimiotácticos
Citocinas: IL-8, IL-1, IL-4, IL-13	Péptidos antimicrobianos: β -defensinas, catelicidina
Quimiocinas: IL-8, CCL20/MIP3 α	Quimiocinas: IL-8, CCL20/MIP3
LeucotrienoLTB4, PLA2	LeucotrienoLTB4, PLA2

CCL, ligando quimiocina 20; IL, interleukina; LT: leucotrieno; PLA2, fosfolipasa A2. LTB4 es el eicosanoides derivado del AA. Tabla modificada de [15].

Algunos estudios con aceite de pescado en sujetos humanos sanos han demostrado una disminución en la quimiotaxis de neutrófilos y monocitos atraídos por diversos quimioatrayentes (LTB4, péptidos bacterianos y suero humano). Estos estudios utilizaron entre 3 y 15g de EPA + DHA al día. El mecanismo por el cual los AGP n-3, en este caso de origen marino, inhiben la quimiotaxis no está claro, pero puede relacionarse con una expresión reducida o antagonismo de los receptores para tales quimioatrayentes.

- **AGP n-3 y expresión de moléculas de adhesión e interacciones adhesivas de leucocitos con el endotelio.**

Las moléculas de adhesión son proteínas que se expresan en la superficie de las células endoteliales y los leucocitos. Estas moléculas forman estructuras tipo ligando que promueven la interacción entre los diferentes tipos de células. A través de estas interacciones, los leucocitos interactúan con la pared del vaso sanguíneo y promueven el flujo sanguíneo al sitio de inflamación.

Estudios con cultivo celular y en animales muestran una expresión disminuida de algunas moléculas de adhesión en la superficie de los monocitos, macrófagos, linfocitos y células endoteliales tras la exposición a EPA y DHA que disminuían la adhesión de los monocitos a las monocapas de células endoteliales estudiadas (Figura 6). El consumo de aceite de pescado con aproximadamente 1,5 g EPA+DHA día dio como resultado un nivel más bajo de expresión de la molécula de adhesión intercelular ICAM-1 en la superficie de los monocitos de sangre estimulados ex vivo con interferón γ .

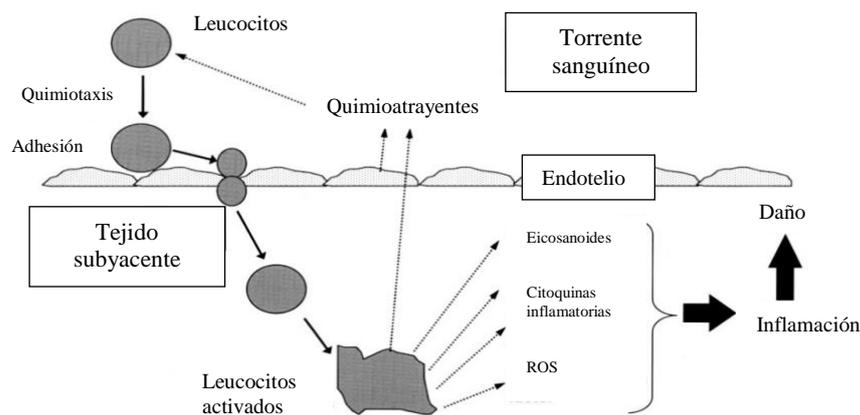


Figura 6. Migración de leucocitos a través del endotelio y posterior generación de mediadores inflamatorios. Modificado de[16].

- Producción de AGP n-3 y eicosanoides

El AGP precursor de los mediadores lipídicos (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos) se libera de los fosfolípidos de membrana de las células inflamatorias. Por lo general, el más común en los fosfolípidos de la membrana de macrófagos, neutrófilos y linfocitos es ácido araquidónico (AA) (C204 n-6), siendo este el precursor eicosanoide habitual. El AA se libera de los fosfolípidos a través de la acción de la enzima cPLA2, que es activada por estímulos inflamatorios. El ácido AA libre actúa entonces como un sustrato para las enzimas (COX), lipoxigenasa (LOX) y las isoformas del citocromo P450. Las enzimas COX conducen a la formación de PGs y tromboxanos, las LOX a leucotrienos, las iso-enzimas del citocromo P450 a los ácidos hidroxieicosatetraenoico y epoxieicosatrienoico. Los eicosanoides actúan como mediadores y reguladores de la inflamación a través de receptores específicos, generalmente receptores acoplados a proteína G (Figura 7).

Estudios in vitro en células humanas y en animales han demostrado que la producción de eicosanoides derivados del AA como PGE2 se ve disminuida por el DHA [17]. Numerosos estudios con voluntarios humanos sanos han descrito una disminución en la producción de PGE2 y LT de la serie 4 por células inflamatorias tras el consumo de AGP n-3 durante un período de semanas a meses aunque con ingestas bastante elevadas (varios gramos al día) de EPA + DHA.

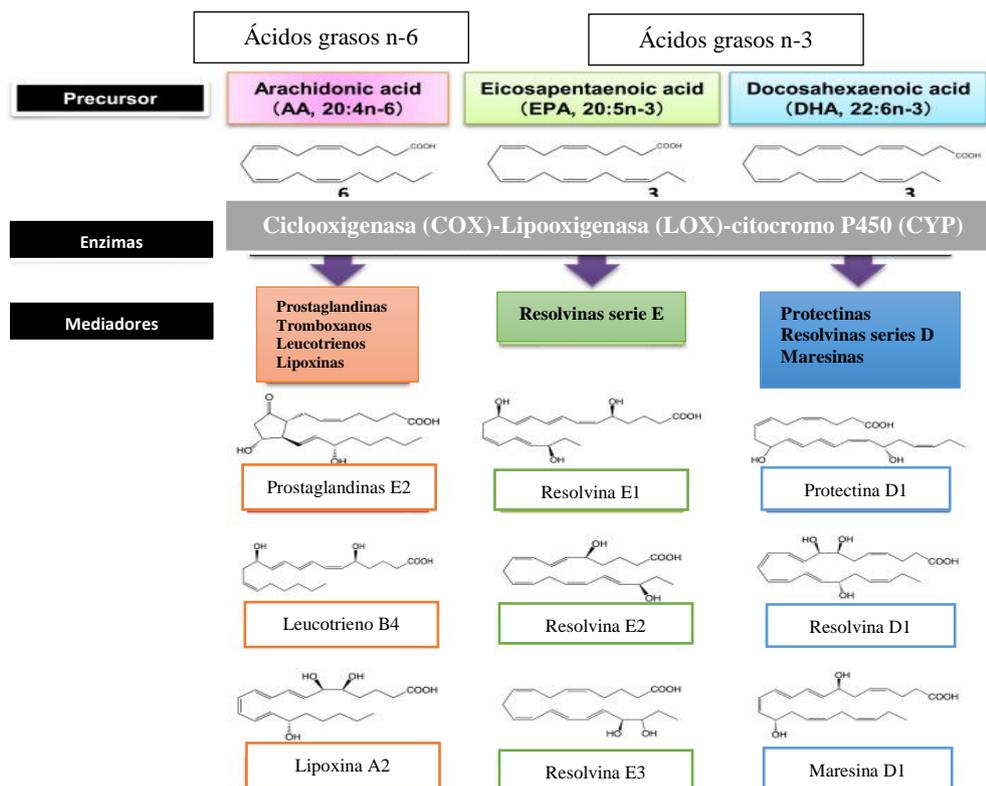


Figura 7. Mediadores lipídicos derivados de AGP. El ácido araquidónico (AA) es un precursor metabólico de los eicosanoides como mediadores pro-inflamatorios. Por el contrario, los AGP n-3 se convierten en metabolitos bioactivos con propiedades antiinflamatorias y pro-resolución. Modificado de[18].

Debido a que el EPA es un AGP altamente insaturado de 20 carbonos, también es un sustrato para las enzimas COX, LOX y citocromo P450 que producen eicosanoides. Sin embargo, estos tienen una estructura diferente a los que se originan a partir del AA (por ejemplo, PGE3 en lugar de PGE2 y LTB5 en lugar de LTB4) [7]. La importancia funcional de la generación de eicosanoides a partir de EPA es que los mediadores derivados de EPA a menudo son mucho menos activos biológicamente que los producidos a partir del AA. Una de las razones de esta potencia biológica reducida es que los receptores de eicosanoides generalmente tienen una afinidad más baja para el mediador derivado de EPA que para el derivado de AA. Por lo tanto, los resultados del consumo de EPA implican una producción disminuida de eicosanoides potentes a partir del AA y una mayor producción de eicosanoides débiles a partir de EPA [19].

- **AGPn-3 y resolvinas**

En la última década se han descubierto nuevas familias de mediadores lipídicos producidos a partir de AGP n-3 marinos. Estos incluyen las resolvinas producidas a partir de EPA (serie E) y DHA (serie D) y las protectinas. La síntesis de resolvinas y protectinas involucra a las vías COX, LOX, CYP450 y se producen diferentes epímeros según la presencia

o ausencia de ácido acetilsalicílico. Los estudios sobre los efectos biológicos de resolvinas y protectinas han demostrado que son antiinflamatorios y favorecen que la inflamación se resuelva. Las actividades biológicas de las resolvinas están mediadas a través de receptores acoplados a proteínas G específicas.

- ***AGP n-3 y citoquinas inflamatorias.***

Los primeros estudios demostraron que EPA y DHA inhibían la producción de IL-6 e IL-8 estimulada por endotoxinas y que el EPA inhibía la producción de TNF- α . Varios estudios con voluntarios humanos sanos han demostrado una disminución de la producción de TNF- α , IL-1 β e IL-6 por monocitos o células mononucleares estimulados con endotoxina, aunque no todos los estudios confirman tales resultados [16].

- ***AGP n-3 y reactividad de las células T***

En cultivos celulares, tanto EPA como DHA inhiben la proliferación de células T y la producción de IL-2. En los estudios de experimentación animal con cantidades elevadas de EPA o DHA se observó una reducción de las respuestas proliferativas de las células T.

En la sección anterior hemos resumido los estudios que muestran que, a una dosis elevada, los AGP n-3 (casi todos los estudios utilizan los de origen marino) ejercen acciones antiinflamatorias; donde claramente se observa un cambio de un entorno fuertemente pro-inflamatorio a uno de inflamación reducida, con disminución de la capacidad de respuesta de las células (neutrófilos, monocitos, macrófagos, células T, células endoteliales) y mayor resolución de la inflamación.

A parte de los estudios ya discutidos, se ha identificado una serie de mecanismos por los cuales los AGP n-3 pueden influir en otros aspectos, separados de la respuesta inflamatoria en sí, que afecta sobre todo a la expresión de genes:

- ***Efectos funcionales de AGP n-3 que afectan la composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana celular alterada.***

Los AGP son componentes estructurales y funcionales muy importantes de los fosfolípidos de las membranas celulares. Hay que destacar que los fosfolípidos de las células involucradas en la inflamación, por lo general, contienen una proporción bastante alta de AA y a menudo poco EPA o DHA. Sin embargo, en algunos estudios donde se ha incorporado dieta rica en AGP n-3 en animales de experimentación, incluso en voluntarios humanos sanos [20], da como resultado un aumento de la acumulación de EPA y DHA, y una reducción del contenido de AA en estas células (Figura 8).

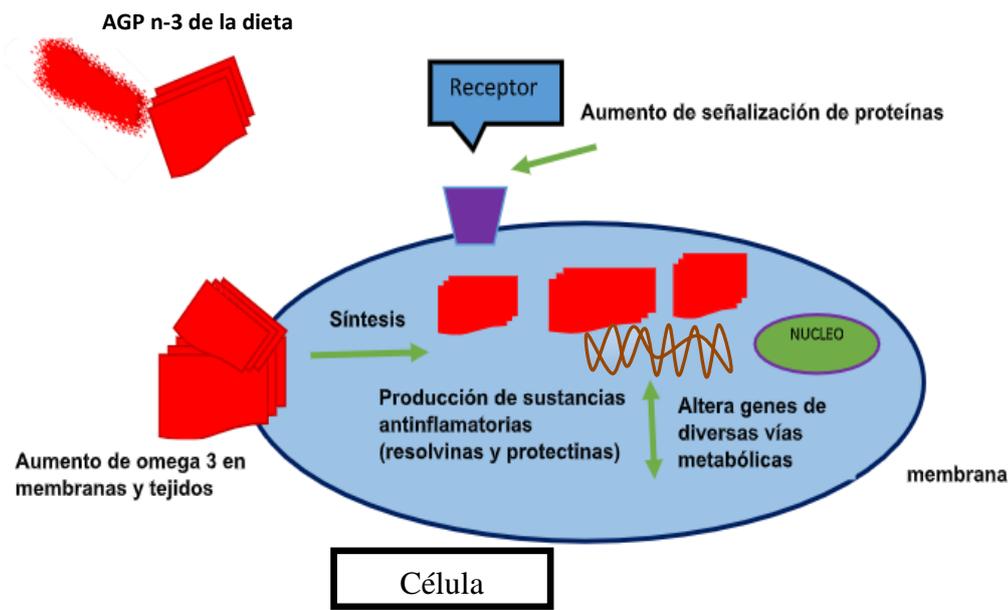


Figura 8. La incorporación de ácidos AGP n-3 en las membranas celulares aumenta la señalización de algunos receptores de membrana. También aumenta la síntesis de protectinas y resolvinas, que tienen un efecto antiinflamatorio y regulan diversos genes que participan en la activación de vías metabólicas. Modificado de[21].

Por lo tanto, el cambio en la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana celular inflamatoria presenta una disponibilidad alterada de sustratos para la síntesis de eicosanoides, endocannabinoides, resolvinas y protectinas. Es muy probable que este sea un punto importante para los efectos observados de los AGP n-3 en los perfiles de eicosanoides. Aunque los efectos inhibitorios de EPA sobre las actividades de la cPLA2 y COX darían como resultado una menor disponibilidad y una disminución en el metabolismo del AA.

Un segundo aspecto de la alteración de la composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana celular involucra a las llamadas "balsas lipídicas". Las balsas son estructuras que se forman por el movimiento de receptores, proteínas y enzimas. Este movimiento se produce en respuesta a la activación celular y es esencial para que las señales intracelulares se traduzcan adecuadamente en el citosol y hacia el núcleo.

El efecto de los AGP n-3 en las células T implica una estructura química alterada de las "balsas lipídicas" que altera su funcionamiento. Los estudios de cultivo celular y experimentación animal han demostrado que la exposición a AGP n-3 puede modificar la formación de tales balsas en células T, de una manera que perjudica los mecanismos de señalización intracelular en estas células, en las que se observa una disminución de la reactividad de las células T después de la exposición.

- **Efectos de los AGP n-3 en la señalización inflamatoria mediada por NFκB**

El factor nuclear kappa B (NFκB) es uno de los factores de transcripción más importantes que participan en las respuestas inflamatorias, involucrado en la regulación de los genes que codifican citoquinas inflamatorias, moléculas de adhesión [3] y COX-2. El NFκB se activa en una cascada de señalización desencadenada por estímulos inflamatorios extracelulares que implica la fosforilación de una subunidad inhibitoria que luego permite la translocación del dímero de NFκB al núcleo.

Como se describió anteriormente, los AGP n-3 disminuyen la expresión de moléculas de adhesión y la producción de citoquinas inflamatorias y metabolitos COX-2. Un mecanismo común para explicar estos efectos sería a través del sistema NFκB. De hecho, en algunos estudios, EPA y DHA aisladamente habían reducido la activación de NFκB asociada a una disminución de la fosforilación del precursor inactivo IκB. En contraste, los ácidos grasos saturados, especialmente el ácido láurico[22], aumentaron la activación de NFκB en macrófagos [22] y en células dendríticas. Lee et al. [22] informaron que EPA y DHA pudieron prevenir este efecto proinflamatorio promovido por el ácido láurico en macrófagos.

Estas observaciones sugieren un efecto general de los AGP n-3 en la expresión de genes inflamatorios mediante la inhibición de la activación del factor de transcripción NFκB en respuesta a estímulos inflamatorios exógenos.

- **Efectos de los AGP n- 3 en el factor de transcripción antiinflamatorio PPAR-γ.**

NR1C3 o el receptor activado por proliferadores peroxisomales tipo gamma (PPAR-γ) es un factor de transcripción cuya regulación interviene en el control de la inflamación: regula directamente la expresión de genes inflamatorios e interfiere con la translocación de NFκB al núcleo. El PPAR-γ puede activarse con AGP n-3 en células inflamatorias (el DHA induce el PPAR-γ y varios genes diana conocidos del PPAR-γ) que se traduce en la disminución de la producción de las citoquinas inflamatorias TNF-α e IL-6. Por lo tanto, la activación de PPAR-γ es uno de los mecanismos de acción antiinflamatorio de los AGP n-3 [19]; y esto puede vincularse a la inhibición de la activación de NFκB descrita anteriormente.

- **Efectos de AGP n-3 sobre cPLA2.**

Las cPLA2 son un grupo de enzimas con un rol importante en una variedad de procesos celulares, como la producción de precursores para reacciones inflamatorias; catalizan la hidrólisis de glicerofosfolípidos de membranas para liberar AA y producir lisofosfolípidos como mediadores lipídicos. En un estudio realizado in vitro, Olimpia et al [17], mostraban que DHA inhibía la liberación de AA por las células del epitelio intestinal mediante la inhibición de cPLA2. En otros estudios se ha demostrado que la cPLA2 interviene en la liberación dependiente de AA de los IELs después de la incubación con gliadina[3].

- **Efectos de AGP n-3 en el receptor acoplado a proteína G GPR120.**

En el organismo disponemos de varios receptores de membrana celular acoplados a proteína G a los que pueden unirse los AGP. Existe cierta especificidad con dos de estos receptores, FFA1 o GPR40 y GPR120, que pueden unirse a AGP de cadena larga.

Los macrófagos inflamatorios expresan abundantemente GPR120, pero no expresan FFA1 [23]. Un agonista sintético de GPR120 inhibió la respuesta de los macrófagos a la endotoxina, un efecto que implicó la activación de I κ B citosólico y una disminución en la producción de TNF- α e IL-6 [23]. Estos efectos son similares a los del EPA y DHA e indican que GPR120 está involucrado en la señalización antiinflamatoria. En este mismo artículo, Oh et al. [23], estudiaron el efecto de EPA y DHA en la activación génica mediada por GPR120 en macrófagos. Descubrieron que tanto EPA como DHA mejoraron la actividad antiinflamatoria. Además, se observó que la capacidad del DHA para inhibir la respuesta de los macrófagos a la endotoxina, fue abolida en las células donde se procesó a la eliminación de GPR120. Estos hallazgos indican que el efecto inhibitorio de DHA (y probablemente también de EPA) sobre NF κ B se produce a través de GPR120 [19]. Por lo tanto, parece haber al menos dos mecanismos por los cuales los AGP n-3 inhiben la activación de NF κ B, uno que involucra GPR120 y el otro al PPAR- γ .

Todos estos estudios anteriormente citados, realizados tanto en modelos animales como en sujetos sanos, han demostrado en su gran mayoría que los AGP n-3 disminuyen el daño y la inflamación; predominantemente debido a la reducción en la producción de eicosanoides derivados del AA. Por otro lado, numerosos estudios [21] sobre la incorporación de cantidades elevadas de EPA y DHA mediante la dieta en la mucosa intestinal en pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) se observa una reducción de la inflamación intestinal. Algunos ensayos aleatorios controlados de aceite de pescado en la EII han señalado beneficios clínicos que incluyen, entre otros aspectos, una mejoría clínica, una mejor histología de la mucosa intestinal, una menor tasa de recaída, un menor uso de corticosteroides. Sin embargo, varios ensayos no informan de tales beneficios[24]. A pesar de algunos datos favorables, en el mejor de los casos, solo hay pruebas débiles de que los AGP n-3 marinos tienen beneficios clínicos en la EII humana [19].

6. CONCLUSIONES.

Casi todos los estudios citados en la discusión, se han realizado con AGP n-3 de pescado utilizado como complemento alimenticio, siendo este administrado "directamente" como AGP y no formando parte de triglicéridos. El presente trabajo trata de evaluar los beneficios de los AGP n-3 en pacientes con EC mediante la ingesta de leches enriquecidas con AGP n-3 (ingesta indirecta). Aunque los estudios sobre AGP n-3 son abundantes y señalan que no solo poseen actividad antiinflamatoria sino que también funciones importantes a nivel del sistema nervioso, sistema circulatorio, etc. Los estudios de los efectos de leches enriquecidas en AGP n-3 en pacientes son bastante escasos, siendo por tanto un campo de investigación bastante preliminar con poca evidencia clínica relevante que pueda avalar la prescripción de este tipo de leche, como tratamiento coadyuvante para sujetos con EC. En el mercado actual

hay muchas leches enriquecidas en AGP n-3 pero en cuyo envase siempre hacen referencia a la reducción de la presión arterial y del colesterol pero no a la posible acción antiinflamatoria de utilidad para la EC. Considerando que la leche es el uno de los alimentos más completos, el consumo de estos lácteos funcionales garantizaría además del aporte de aminoácidos esenciales, un alto contenido en calcio y otros minerales, pero además contribuiría a cubrir las ingestas de referencia para AGP n-3, aspecto claramente beneficioso para sujetos con patología intestinal inflamatoria, dado el papel beneficioso demostrado de estos ácidos grasos en la inflamación.

ANEXO: Algunos estudios sobre leches enriquecidas con Omega-3

<u>Autores</u>	<u>Características población de estudio</u>	<u>Dosis y duración</u>	<u>Resultados</u>
Romeo J, et al. 2009	107 sujetos sanos de 8-14 años.	0.6L/día de leche enriquecida 5 meses	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ moléculas de adhesión (E-selectina, ICAM-1) • ↓ linfocitos • ↑ DHA • ↑ concentración sérica de calcio.
Carrero JJ, et al. 2004	30 sujetos de 45-65 años	<ol style="list-style-type: none"> 1. 0.5L/día leche semidesnatada. 4 semanas. 2. 0.5L/día leche enriquecida (APG n-3, ácido oleico, vitaminas E y B6, y ácido fólico). 8 semanas. 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Conc. séricas de DHA y EPA • ↓ Glicerol • ↓ colesterol total, LDL • ↓ moléculas de adhesión • ↓ homocisteína • ↑ ácido fólico
Fonollá J, et al. 2009	297 sujetos de 25-65 años con riesgo cardiovascular moderado.	Un grupo consumió 0.5L/día de leche enriquecida (DHA, EPA, ácido oleico y vitaminas A, B6, D, E y ácido fólico). 1 año.	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ folatos séricos • ↑ HDL • ↓ LDL, colesterol total • = glucosa sérica • = proteína C reactiva
Benito P, et al. 2006	72 pacientes con Síndrome metabólico	0.5L/día de leche enriquecida (5.7 g ácido oleico, 0.2g AGP n-3, 150 µg ácido fólico, 7.5 mg vitamina E)	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ glucosa • ↑ HDL • ↓ LDL, colesterol total • ↓ TG
Treble TM, et al.	16 hombres sanos	0.3, 1 y 2g EPA+DHA cada una de ellas durante 3 semanas. Total de 12 semanas	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ producción de PGE2 • ↑ producción de IFN-γ • ↑ proliferación de linfocitos

BIBLIOGRAFÍA.

- [1] Diego S. Cazzaniga A. Enfermedad celiaca y aptitud de productos lácteos. Trabajo Final Integrador para optar al título. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. 2013.
- [2] Rodríguez Montealegre A, Celada P, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. Acerca de la enfermedad celiaca. Breve historia de la celiaquía. JONNPR 2018; 3(12): 980-997.
- [3] Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, Saturni L. Celiac Disease, inflammation and oxidative damage: A nutrigenetic approach. *Nutrients* 2012; 4: 243-257; doi:10.3390/nu4040243
- [4] P. C. Calder *et al.*, «Inflammatory disease processes and interactions with nutrition», *Br. J. Nutr.*, vol. 101 Suppl 1, pp. S1-45, may 2009.
- [5] De Stefano D, Maiuri MC, Lovine B, Lalenti A, Bevilacqua MA, Carnuccio R. The role of NF- κ B, IRF-1, and STAT-1 α transcription factors in the iNOS gene induction by gliadin and IFN- γ in RAW 264.7 macrophages. *J. Mol. Med.* 2006, 84, 65–74.
- [6] Hosseini SM, Soltanizadeh N, Mirmoghtadaee P, Banavand P, Mirmoghtadaie L, Shojaee-Aliabadi S. Gluten-free products in celiac disease: Nutritional and technological challenges and solutions. *J Res MedSci.* 2018; 23: 109.
- [7] Sánchez-Muniz FJ, Bastida S. *Libro blanco de la nutrición en España: Lípidos.* 2013; 113-124
- [8] Herrera MC, León RV, Tolentino RG, Fernández BG, González GD. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: Nutrición, bioquímica y salud. *Rev. Educ. Bioquímica.* 2006; 25(3); 72-79.
- [9] Gil A, Camarero González E, Culebras J, González-Gallego J, León M. *Tratado de Nutrición. Volumen III. Nutrición Humana en el Estado de Salud.* 2005.
- [10] Calder PC. Fattyacids and inflammation: The cutting edge between food and pharma. *Eur. J. Pharmacol.* 2011; 668: 50–58.
- [11] Zapata-Gonzalez F, Rueda F, Petriz J, Domingo P, Villarroya F, Diaz-Delfin J, de Madariaga MA, Domingo JC. Human dendritic cell activities are modulated by the omega-3 fatty acid, docosahexaenoic acid, mainly through PPAR (γ):RXR heterodimers: Comparison with other polyunsaturated fatty acids. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 84: 1172–1182.
- [12] Romeo J, Wärnberg J, García-Mármol E, Rodríguez-Rodríguez M, Diaz LE, Gomez-Martínez S, Cueto B, López-Huertas E, Cepero M, Boza JJ, Fonollá J, Marcos A. *NutrMetabCardiovasc Dis.* 2011 Feb;21(2):113-20. doi: 10.1016/j.numecd.2009.08.007. Epub 2009 Nov 25
- [13] REGLAMENTO (UE) No 116/2010 DE LA COMISIÓN de 9 de febrero de 2010 por el que se modifica el Reglamento (CE) no 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a la lista de declaraciones nutricionales. *Diario Oficial de la Unión Europea* 10.2.2010. L 37/16
- [14] Siurana A. Obtención de una leche enriquecida de forma natural en ácidos grasos omega-3 y ácido conjugado linoleico sin disminución de la cantidad de grasa láctea. Departamento de Ciencia animal y los alimentos. Universidad Autónoma de Barcelona, 2015

- [15] Rivas-Santiago BT, Torres Rojas M, Bobadilla Lozoya K, Sada Díaz E. Papel de las células epiteliales en la respuesta inmune del pulmón. *Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Mex.* 2005; 18(4): 321-326.
- [16] Calder PC. N - 3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J ClinNutr.* 2006; 83: 1505S-1519.
- [17] Vincentini O, Quaranta MG, Viora M, Agostoni C, Silano M. Docosahexaenoic acid modulates in vitro the inflammation of celiac disease in intestinal epithelial cells via the inhibition of cPLA2. *ClinNutr.* 2011;30(4):541-546.
- [18] Miyata J, Arita M. Role of omega-3 fatty acids and their metabolites in asthma and allergic diseases. *Allergol Int.* 2015; 64(1): 27-34.
- [19] Calder PC. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology? *Br J ClinPharmacol.* 2013; 75(3): 645-662.
- [20] Kew S, Banerjee T, Minihane AM, Finnegan YE, Muggli R, Albers R, Williams CM, Calder PC. Lack of effect of foods enriched with plant - or marine - derived n - 3 fatty acids on human immune function. *Am J ClinNutr.* 2003; 77: 1287-1295.
- [21] Castellanos T L, Rodriguez D M. El efecto de omega 3 en la salud humana y consideraciones en la ingesta. *Rev. Chil. Nutr.* 2015; 42(1): 90-95.
- [22] Lee JY, Sohn KH, Rhee SH, Hwang D. Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 through Toll-like receptor. *J Biol Chem.* 2001; 276: 16683-16689.
- [23] Oh DY, Talukdar S, Bae EJ, Imamura T, Morinaga H, Fan WQ, Li P, Lu WJ, Watkins SM, Olefsky JM. GPR120 is an omega - 3 fatty acid receptor mediating potent anti - inflammatory and insulin - sensitizing effects. *Cell.* 2010; 142: 687-698.
- [24] Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammatory processes and inflammatory bowel diseases. *Mol NutrFood Res.* 2008; 52(8): 885-897.
- [25] Fonollá J, López-Huertas E, Machado FJ, Molina D, Alvarez I, Mármol E, Navas M, Palacín E, García-Valls MJ, Remón B, Boza JJ, Marti JL. Milk enriched with "healthy fatty acids" improves cardiovascular risk markers and nutritional status in human volunteers. *Nutrition.* 2009 Apr;25(4):408-14. doi: 10.1016/j.nut.2008.10.008. Epub 2008 Dec 11