

# Interrogantes y educación sanitaria para la Oficina de Farmacia

**Inflamación, grasa dietética y enfermedades crónicas, Alzheimer, insulinoresistencia, anemias y ciencias "ómicas"**



REAL ACADEMIA  
NACIONAL DE  
FARMACIA

**INSTITUTO TOMÁS PASCUAL**  
para la nutrición y la salud

**COFM**  
COLEGIO OFICIAL DE  
FARMACÉUTICOS  
de MADRID



© Fundación Tomás Pascual y Pilar Gómez-Cuétara

INSTITUTO TOMÁS PASCUAL SANZ

Dirección postal y correspondencia: Paseo de la Castellana, 178, 3.º Derecha. Madrid 28046

Domicilio fiscal: c/ Orense, 70. Madrid 28020

Tel.: 91 703 04 97. Fax: 91 350 92 18

[www.institutotomas Pascual.es](http://www.institutotomas Pascual.es) • [webmasterinstituto@institutotomas Pascual.es](mailto:webmasterinstituto@institutotomas Pascual.es)

© Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid (COFM)

C/ Santa Engracia, 31. 28010 Madrid

Tel.: 91 406 84 00

[www.cofm.es](http://www.cofm.es) • [cofm@cofm.es](mailto:cofm@cofm.es)

© Real Academia Nacional de Farmacia (RANF)

C/ De la Farmacia, 9-11. 28004 Madrid

[www.ranf.com](http://www.ranf.com) • [secretaria@ranf.com](mailto:secretaria@ranf.com)

Coordinación editorial:



Alberto Alcocer, 13, 1.º D. 28036 Madrid

Tel.: 91 353 33 70. Fax: 91 353 33 73

[www.imc-sa.es](http://www.imc-sa.es) • [imc@imc-sa.es](mailto:imc@imc-sa.es)

Ni el propietario del copyright, ni los patrocinadores, ni las entidades que avalan esta obra, pueden ser considerados legalmente responsables de la aparición de información inexacta, errónea o difamatoria, siendo los autores los responsables de la misma.

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo las fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de recuperación de almacenaje de información, sin permiso escrito del titular del copyright.

ISBN: 978-84-7867-063-5

Depósito Legal: M-30186-2011

# Interrogantes y educación sanitaria para la Oficina de Farmacia

## Autores

**Itziar Abete Goñi**

*Doctora en Nutrición. Investigadora asociada. Dpto. de Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología. Universidad de Navarra, Pamplona (Navarra).*

**Concepción María Aguilera García**

*Profesora Titular del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II y miembro del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada.*

**Victoria Ayala Jové**

*Nutred-UdL, Departamento de Medicina Experimental. Universidad de Lleida.*

**Maria Josep Bellmunt Curcó**

*Nutred-UdL, Departamento de Medicina Experimental. Universidad de Lleida.*

**Jesús Benavides Yanguas**

*Doctor en Farmacia. Consultante en Neurofarmacología. Profesor invitado de la Escuela Doctoral de la Universidad de París XI.*

**Jordi Boada Pallàs**

*Nutred-UdL, Departamento de Medicina Experimental. Universidad de Lleida.*

**Isabel Bondia Pons**

*Doctora en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Licenciada y Máster en Química por la Universidad de Barcelona. Investigadora Posdoctoral. Colaborador investigador de la Universidad de Navarra.*

**Lisardo Boscá Gomar**

*Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" (Centro Mixto CSIC-UAM).*

**Marco Antonio Delgado Delgado**

*Grupo Leche Pascual.*

**Alberto Espinel González**

*Director de investigación del Grupo Leche Pascual. Doctor en Biología.*

**Ángel Gil Hernández**

*Catedrático del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada. Presidente de la Fundación Iberoamericana de Nutrición.*

**Estíbaliz Goyenechea Soto**

*Doctora en Farmacia. Dpto. de Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología. Universidad de Navarra, Pamplona (Navarra). Instituto BioDonostia. Hospital Donostia. San Sebastián-Donostia.*

# Interrogantes y educación sanitaria para la Oficina de Farmacia

**J. Alfredo Martínez Hernández**

*Catedrático de Nutrición. Dpto. de Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología.  
Universidad de Navarra, Pamplona (Navarra).*

**Pablo Martínez Martín**

*Director Científico Unidad de Investigación del Proyecto Alzheimer,  
Fundación CIEN – Fundación Reina Sofía, Centro Alzheimer Fundación Reina Sofía  
y miembro del CIBERNED. Instituto de Salud Carlos III.*

**Gloria Olaso González**

*Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Valencia.*

**Reinald Pamplona Gras**

*Nutred-UdL, Departamento de Medicina Experimental. Universidad de Lleida.*

**Manuel Portero-Otin**

*Nutred-UdL, Departamento de Medicina Experimental. Universidad de Lleida.*

**Ángel F. Remacha Sevilla**

*Jefe del Servicio de Hematología del Complejo Hospitalario de Toledo*

**José Serrano Casasola**

*Nutren-UdL, Departamento de Medicina Experimental, Universidad de Lleida.*

**M.<sup>a</sup> Pilar Vaquero Rodrigo**

*Departamento de Metabolismo y Nutrición, Instituto del Frío,  
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Nutrición (ICTAN),  
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid.*

**José Viña Ribes**

*Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Valencia.*

**M.<sup>a</sup> Ángeles Zulet Alzorriz**

*Profesora titular de nutrición. Dpto. de Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología.  
Universidad de Navarra, Pamplona (Navarra).*

# Índice

---

**7**

**Prólogo**

D. Ricardo Martí Fluxá

---

**9**

**Prólogo**

D. Alberto García Romero

---

**11**

**Prólogo**

D. Antonio R. Martínez Fernández

---

**Jornada “Fisiopatología, avances en el tratamiento nutricional e influencia del estilo de vida en la resistencia de la insulina”**

**15**

**Avances en el tratamiento nutricional e influencia del estilo de vida en insulinoresistencia**

José Serrano Casasola

**31**

**Resistencia a la insulina: ¿factor de riesgo o adaptación fisiológica?**

Reinald Pamplona Gras, José Serrano Casasola, Jordi Boada Pallàs, Victoria Ayala Jové, Maria Josep Bellmunt Curcó, Manuel Portero-Otin, Alberto Espinel González y Marco Antonio Delgado Delgado

---

**Jornada “Inflamación y patogenicidad. La respuesta inflamatoria en patologías cardiovasculares y en el envejecimiento”**

**55**

**La inflamación como causa de patogenicidad en enfermedades cardiovasculares**

Lisardo Boscá Gomar

**77**

**Efectos beneficiosos de la alimentación con complementos con soja sobre los genes de longevidad**

José Viña Ribes y Gloria Olaso González

---

**Jornada “Nutrigenómica y metabolómica nutricional”**

**87**

**Nutrición personalizada y nutrigenómica**

Estíbaliz Goyenechea Soto, Itziar Abete Goñi, M.<sup>a</sup> Angeles Zulet Alzorritz y J. Alfredo Martínez Hernández

**101**

**Avances en metabolómica nutricional**

Isabel Bondia Pons y J. Alfredo Martínez Hernández

---

---

**Jornada “*Condicionantes fisiopatológicos y nutricionales de la anemia ferropénica*”**

**123**

**El déficit de hierro**

Ángel F. Remacha Sevilla

**139**

**La nutrición en la prevención de la deficiencia de hierro**

M.<sup>a</sup> Pilar Vaquero Rodrigo

---

**Jornada “*Papel de la grasa dietética en la prevención y tratamiento de las enfermedades crónicas*”**

**149**

**La grasa dietética en la prevención y el tratamiento de las enfermedades crónicas**

Ángel Gil Hernández

**177**

**Mecanismos de acción de la grasa dietética en la obesidad, el síndrome de resistencia insulínica y las enfermedades cardiovasculares**

Concepción María Aguilera García

---

**Jornada “*Innovación terapéutica y factores de protección frente a la enfermedad de Alzheimer*”**

**203**

**Innovación terapéutica en la enfermedad de Alzheimer**

Jesús Benavides Yanguas

**221**

**¿Existen factores protectores frente a la enfermedad de Alzheimer?**

Pablo Martínez Martín

---

# Prólogo

Estimado lector:

Bienvenidos a la lectura de este libro que recoge el ciclo de conferencias celebrado a lo largo del año 2010 en la sede de la Real Academia Nacional de Farmacia. Estos ciclos de conferencias son el resultado del acuerdo firmado entre esta Institución, el Ilustre Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid y el Instituto Tomás Pascual Sanz para la nutrición y la salud.

En los ciclos de conferencias se pretende recoger y difundir el conocimiento más avanzado en ciertas patologías de interés para los farmacéuticos en el desempeño de su actividad al frente de una Oficina de Farmacia, dotándoles de información sobre los últimos avances en dichas patologías y del conocimiento necesario para reconocer los síntomas y abordar satisfactoriamente las preguntas que los usuarios de la Oficina de Farmacia puedan plantear al farmacéutico. Así, éste puede derivar con mayor conocimiento al especialista correspondiente y ayudar en el seguimiento de los pacientes, aunando las sinergias que ofrece que la farmacia sea uno de los primeros puntos de atención sanitaria en nuestra sociedad. Todas las conferencias ofrecen un particular enfoque sobre las recomendaciones, consejo y medidas higiénicas sanitarias que tanto el paciente como su entorno pueden poner en práctica para mejorar y paliar su enfermedad.

Todas las conferencias han sido elaboradas por especialistas en cada una de las materias. En este año 2010 centramos el foco de varias de estas conferencias en la inflamación como origen de la patogenicidad, y se hizo un recorrido por el síndrome de resistencia a la insulina y su relación con la obesidad y las enfermedades cardiovasculares, así como en el tejido adiposo, un tejido profundamente implicado en los mecanismos de señalización y regulación de la inflamación. En sendos capítulos sobre la grasa dietética se trató de dar a conocer las bases bioquímicas, fisiológicas y los estudios epidemiológicos más importantes que relacionan a la grasa de la dieta con la etiología de las enfermedades crónicas de mayor prevalencia y cómo la utilización de proporciones adecuadas de ácidos grasos en la dieta puede contribuir a la prevención de las mismas. Además se aborda el papel de la grasa dietética sobre moléculas como adipocinas, citoquinas y factores de transcripción, que participan en las vías de señalización relacionadas con inflamación y la acción de la insulina, y con los procesos de adipogénesis. También se dedicaron dos conferencias al estudio de una de las enfermedades más terribles a las que se enfrenta la sociedad actual, la enfermedad de Alzheimer, por su alto coste personal, familiar y social asociado a ella.

Pero también se han tratado otros tres temas de suma actualidad: la nutrigenética, la nutrigenómica y la metabolómica, como tres novísimas ciencias que están aportando una gran cantidad de información científica nutricional. La primera, aportando conocimiento de las variantes genéticas individuales que afectan al metabolismo y fisiología de la nutrición, o sea, al destino y utilización de los nutrientes y la energía de los alimentos, es decir, por qué unos individuos reaccionan de forma diferente a otros ante una misma intervención dietética; la segunda, arrojando luz sobre las interacciones de los nutrientes con los genes, regulando la expresión de los mismos a través de diferentes vías acelerando o impidiendo la expresión génica y de esta manera afectando a los mecanismos fisiopatológicos implicados en algunas de las enfermedades asociadas a la nutrición. La metabolómica permite conocer la expresión del metabolismo ante diferentes intervenciones, ya sean dietéticas o ambientales, de manera que es una herramienta muy potente para detectar nuevos metabolitos y biomarcadores implicados en diversas patologías.

Por último, se dedicó una tarde al estudio de uno de los déficits más habituales en nuestra dieta, el déficit de hierro, que es la base para la aparición de la anemia ferropénica, una de las preocupaciones más importantes en salud pública, incluso en sociedades desarrolladas.

Queremos agradecer a todos los ponentes la entrega y disposición para desarrollar el ciclo de conferencias del año 2010, de gran profundidad científica, aportando los últimos y más recientes avances en sus respectivas disciplinas. Su esfuerzo se traduce hoy en este libro que deseamos sea de su agrado.

También deseamos agradecer a la presidenta de la Real Academia Nacional de Farmacia, D.<sup>a</sup> María Teresa Miras, el apoyo continuo a esta iniciativa, a D.<sup>a</sup> Mercedes Gomis, vicepresidenta del Ilustre Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid, a nuestra amiga D.<sup>a</sup> Pilar León, sin cuya ilusión y energía no se hubiesen podido llevar a cabo estas conferencias, y, por último, a la vocal de Nutrición del Ilustre Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid, D.<sup>a</sup> Yolanda Ponte, en su reciente incorporación a estos ciclos.

Muchas gracias.

**D. Ricardo Martí Fluxá**

*Presidente del Instituto Tomás Pascual Sanz  
para la nutrición y la salud*

# Prólogo

Estimado lector

Me cabe el honor de prologar este libro de *Interrogantes y Educación Sanitaria para la Oficina de Farmacia*.

La Real Academia Nacional de Farmacia, el Instituto Tomás Pascual y el Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid han aunado sus esfuerzos para proporcionar al colectivo farmacéutico una oferta formativa variada y útil, orientada hacia trastornos frecuentes que son motivo de consulta diaria en las Oficinas de Farmacia. Los farmacéuticos somos depositarios de una función asistencial relacionada con la dispensación de medicamentos, y de otra función preventiva, vertebrada en la salud pública y entroncada con la prevención de la enfermedad y con la promoción de la salud a través de la educación sanitaria.

El presente libro es la recopilación de unas conferencias en las que se han puesto en valor aspectos cruciales de las patologías prevalentes, poniendo especial énfasis en la nutrición como elemento sustancial de cualquier estilo de vida.

Como sabemos, la salud se construye desde la prevención, se sustenta en la promoción de hábitos saludables y se perpetúa con la educación sanitaria. Nadie tiene ninguna duda de que las raíces más profundas del estado del bienestar tienen su reflejo en una sociedad que conoce y cuida su salud.

Bajo esta perspectiva, esta obra consigue ofrecer una visión clarificadora y formativa sobre la resistencia a la insulina y su relación con los hábitos alimentarios, así como a la patogenicidad cardiovascular inducida por la inflamación. Estos aspectos son imprescindibles para comprender el síndrome metabólico y las patologías que lo conforman, así como para entender cuáles son los cambios en el estilo de vida que pueden favorecer la prevención de las enfermedades asociadas.

La nutrición y la anemia ferropénica, la nutrigenómica y metabólica nutricional, junto con un estudio de la innovación terapéutica en la enfermedad de Alzheimer, completan la serie de conferencias que han dado lugar a la edición de esta publicación.

Quiero destacar la importancia que tiene para los profesionales de la salud en general, y para los farmacéuticos en particular, la existencia de programas de formación continuada en trastornos de elevada incidencia y prevalencia, toda vez que, en una sociedad cada vez más longeva, la presencia de enfermedades crónicas y/o degenerativas configuran el principal marco de actuación de su quehacer diario. En este sentido, la presente publicación aborda directamente entidades nosológicas que azotan y asolan nuestra sociedad, y que representan unas de las principales causas de morbi-mortalidad.

Felicito a los autores que han sabido conjugar el rigor con una lectura amena y didáctica, que facilita el estudio y promueve la formación continuada. Sin duda, la claridad expositiva y la presentación de información actualizada y contrastada representa un aliciente adicional que debe ser destacado como atractivo de la publicación.

Por último, es de justicia reseñar y enfatizar el apoyo del Instituto Tomás Pascual y de la Real Academia Nacional de Farmacia, que, junto con el Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid que me honro presidir, apostamos por esta línea de trabajo, con el compromiso de continuar en este mismo camino que nos hemos marcado.

**D. Alberto García Romero**  
*Presidente del COFM*

# Prólogo

Al amparo de un convenio entre la Real Academia Nacional de Farmacia, el Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid y el Instituto Tomás Pascual, se celebraron en Madrid, en la sede de la Real Academia, seis jornadas de actualización científica sobre los problemas derivados de trastornos nutricionales: obesidad, síndrome metabólico, resistencia a la insulina, inflamación, grasas, metabólica, anemia y Alzheimer, directamente asociados al cambio de los hábitos alimentarios y a la disminución de la actividad física.

Parece que estamos sufriendo un proceso acelerado de readaptación, un doble proceso simultáneo consecuencia del sedentarismo y disminución acelerada del trabajo físico, sustituido en todas las actividades por máquinas creadas al efecto, por una parte, mientras se mantiene o incrementa el acceso a macronutrientes: proteínas de alto valor biológico de procedencia animal, grasas abundantes con predominio de ácidos grasos saturados, almidones y sacarosa en exceso, a través de dietas desequilibradas. A este contexto se une recientemente, a la par del aumento del poder adquisitivo, la globalización, que rompe la estacionalidad mediante los intercambios continuos hemisferio norte, hemisferio sur y viceversa.

El hombre como especie no está genéticamente preparado para soportar sin efectos secundarios un proceso de cambio tan rápido. El hombre –un omnívoro preferentemente carnívoro– como especie está preparado para soportar tiempos largos de privación con breves periodos de prosperidad alimentaria, almacenando energía. Pero todo este resultado adaptativo resulta inútil y secundariamente perjudicial si el alimento es cualitativa y cuantitativamente abundante de modo continuo. Por otra parte, de modo más reciente bajo el punto de vista evolutivo, el hombre postneolítico tuvo siempre un arduo trabajo físico. Todo se hacía manualmente, con considerable gasto energético, suplido por una alimentación abundante en grasas y glúcidos. El proceso se acentuó durante la Revolución Industrial, donde por otra parte se inicia el sedentarismo que culmina con la emigración a las ciudades y la disminución radical del sector primario, mecanización, etc., persistiendo los hábitos alimentarios o empeorando el necesario equilibrio de la homeostasis calórica. La obesidad es la manifestación ostensible de este desequilibrio, a su vez asociada al síndrome de resistencia a la insulina y al denominado síndrome metabólico con hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa o diabetes tipo 2, hiperglicemia, disminución de lípidos de alta densidad circulantes y demás procesos que aumentan el riesgo de enfermedades cardiovasculares, una de las causas más frecuentes de muerte o incapacidad.

La realidad actual y las consecuencias de todo este proceso se desmenuzan a través de las conferencias dictadas en las seis jornadas recogidas en esta obra. El hilo conductor es el

examen de todo este proceso adaptativo desde la óptica alimentaria, con propuestas de control industrial, educacional y personal, y desde la óptica fisiopatológica, con análisis de las bases moleculares del proceso inflamatorio en la enfermedad cardiovascular crónica, o la resistencia a la insulina y el papel negativo de los ácidos grasos saturados de larga cadena en exceso, o el positivo de los insaturados, el aporte de hierro, la relación entre nutrición y factores de longevidad y un largo etcétera de revisión y experiencia personal de los autores de estas conferencias. Para concluir, dos ventanas al futuro íntimamente relacionadas con la temática anterior: las dietas individualizadas a partir de la nutrigenómica y la nueva gran herramienta, la metabolómica, que permitirá el conocimiento más adecuado del fenotipo y sus cambios provocados por la dieta y la enfermedad, ajustando al individuo el tratamiento o la prevención adecuada. Desafortunadamente, los múltiples aspectos alimentarios preventivos de Alzheimer: vitaminas relacionadas con la homocisteína ( $B_6$ ,  $B_{12}$  y ácido fólico), las vitaminas antioxidantes (C, D y beta-caroteno), los ácidos grasos mono y poli-insaturados, la dieta mediterránea estricta, no han proporcionado resultados concluyentes en la prevención de la enfermedad. El único factor protector es el nivel educativo y quizás el ejercicio mental y físico; la actividad física, intelectual y social desde temprana edad. Este libro, lector inquieto, puede servir también a este propósito.

**D. Antonio R. Martínez Fernández**

*Vicepresidente de la RANF*

# JORNADA

SOBRE

FISIOPATOLOGÍA, AVANCES  
EN EL TRATAMIENTO  
NUTRICIONAL E INFLUENCIA  
DEL ESTILO DE VIDA EN LA  
RESISTENCIA DE LA INSULINA

16 DE MARZO DE 2010



# Avances en el tratamiento nutricional e influencia del estilo de vida en insulinoresistencia

**José Serrano Casasola.** *Nutren-UdL, Departamento de Medicina Experimental, Universidad de Lleida.*

## Introducción

Según el estudio MESYAS, en España, uno de cada 10 trabajadores activos manifiesta síndrome metabólico (Alegria *et al.*, 2005). Prevalencia baja en comparación con otros estudios que denotan una prevalencia de insulinoresistencia alrededor del 17 a 25% para la población española (EGIR, 2002), es decir, uno de cada cinco españoles, aproximadamente. Esta prevalencia claramente alta tiene una tendencia al alza y está altamente influenciada por cambios en los estilos de vida como: el abandono de los hábitos dietéticos saludables (dietas ricas en fibra, pobres en grasas saturadas y en azúcares solubles, abundantes en frutas, hortalizas y verduras) y el abandono de la actividad física regular, entre otros. Como factor común en la mayoría de los estudios accesibles sobre insulinoresistencia, la obesidad (la variante visceral específicamente) y otros condicionantes del estilo de vida son los factores que más predisponen al desarrollo de esta patología.

Una de las hipótesis actuales más aceptadas que relaciona la obesidad a la etiología de la insulinoresistencia está basada en cómo un desbalance energético, derivado de un consumo excesivo de energía, así como una actividad física leve, tiende a producir una hipertrofia adipocitaria, la

cual a su vez puede desencadenar en un estado de inflamación adipocitaria que podría impedir la incorporación del excesivo consumo de grasa/energía en los adipocitos. Esta grasa remanente circulante tiende a depositarse en otros tejidos, entre ellos el músculo esquelético, el cual, como un mecanismo de compensación homeostática (debido a la abundancia de grasa incorporada dentro del tejido), tiende a inhibir la incorporación de glucosa como fuente de energía, induciendo de esta forma un fenómeno de resistencia a los efectos de la insulina sobre el metabolismo de glúcidos en este tejido. Debido a este mecanismo de compensación al excesivo consumo de energía, el cuadro clínico que se observa en estos individuos es de niveles circulantes elevados de glucosa, insulina, así como de ácidos grasos libres.

Por otro lado, la insulinoresistencia generalmente forma parte del cuadro clínico denominado Síndrome Metabólico, en el cual los individuos manifiestan, además de obesidad, hipertensión arterial, dislipidemias y un estado pro-inflamatorio crónico entre otros aspectos. En este sentido, el tratamiento nutricional debe estar enfocado en el cuidado de cada una de estas manifestaciones clínicas, pudiendo tomar

como eje central o causa principal de esta patología el desbalance energético.

Los niveles de recomendaciones y tratamientos nutricionales pueden estar enfocados desde diversos niveles (modificación tecnológica de alimentos, digestión-asimilación de nutrientes y efectos sistémicos). El primer nivel de actuación puede estar en la industria alimentaria, con la incorporación de una mayor variedad de alimentos e ingredientes funcionales que, además de disminuir el consumo calórico total, influya en el metabolismo energético, así como en la sensación metabólica de saciedad. Un segundo aspecto puede enfocarse en la disminución de la absorción de nutrientes a nivel del tracto gastrointestinal, ya sea por medio de inhibidores de la actividad de las enzimas digestivas, así como inhibidores de transportadores de glucosa/nutrientes a nivel del epitelio intestinal. Recientemente se ha puesto de manifiesto que la composición y actividad metabólica de la microflora colónica puede tener efectos significativos en el metabolismo energético del huésped, la cual podría constituirse en una diana terapéutica. A nivel sistémico, los objetivos pueden estar relacionados con un aumento en la sensibilidad de la insulina, un aumento en la secreción o vida media de la insulina (por medio de inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV, o actuando sobre GIP, GLP-1 entre otros) o por medio del aumento del metabolismo energético por medio de la incorporación de compuestos termogénicos.

Desde un punto de vista genético, existen ciertas evidencias de asociación entre algunos polimorfismos (receptores de membrana, agonistas PPAR, etc.) que podrían servir de diana para tratamientos

nutrigenómicos. No obstante, la información sobre el efecto de diversos alimentos, nutrientes e ingredientes alimentarios sobre estos polimorfismos es escaso.

Por otro lado, también es necesario resaltar como hábito de vida saludable un aumento en la actividad física, así como el cambio a estilos de vida relacionados con la dieta mediterránea, así como el manejo del estrés e inhibición del sistema hormonal (eje hipotálamo-pituitaria-adrenal) desencadenado debido al mismo, posibles contribuyentes de la distrofia adipocitaria y del estado pro-inflamatorio en la insulinoresistencia.

## Estilos de vida e insulinoresistencia

La relación entre estilo de vida e insulinoresistencia es cada vez más clara. Los cambios en estilos de vida parecen tener una mayor velocidad en relación a la adaptación evolutiva del ser humano al estilo de vida actual. Una hipótesis que explica esta diferencia en adaptación/evolución descrita por Sharma (1998) sostiene que nuestro genotipo aún se encuentra adaptado para un ahorro en el gasto energético, es decir, para vivir bajo condiciones de reducida disponibilidad de alimentos. En este sentido, actualmente existe una alta disponibilidad de alimentos, lo cual puede desencadenar una mayor incorporación de reservas energéticas y un aumento en la adiposidad, y, por lo tanto, situaciones de insulinoresistencia descritas anteriormente. Tomando en cuenta esta información, es fácil hipotetizar que el consumo energético actual es mayor que en épocas anteriores. No

obstante, según las encuestas de consumo de alimentos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), los hábitos alimentarios del español promedio se han modificado en los últimos años hacia un menor consumo energético (figura 1), con una distribución mayor de la energía consumida en forma de grasa

en detrimento de los carbohidratos. Esta modificación en la distribución de macronutrientes (carbohidratos, proteína y grasas), junto con una menor actividad física, puede explicar en parte el incremento en la tasa de obesidad observada en la población española, especialmente en niños y adolescentes.

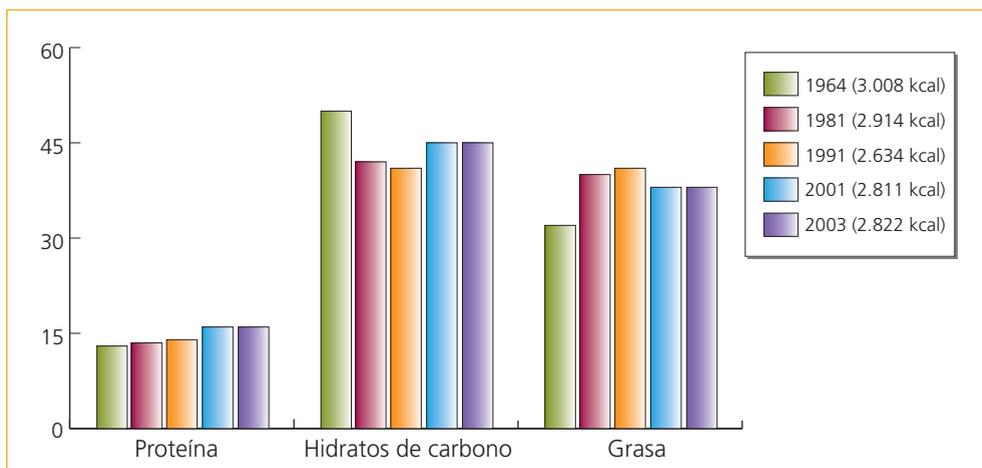


Figura 1. Evolución del perfil calórico en la dieta española desde el año 1964 a 2003. Se observa una disminución en la ingesta total de calorías conforme avanzan los años. No obstante, existe una modificación en la distribución de macronutrientes, en donde el valor energético proveniente del consumo de hidratos de carbono ha disminuido mientras que el proveniente de grasas ha aumentando, explicando de esta forma una posible causa del incremento de obesidad en la población española.

## Enfoque del tratamiento nutricional

El tratamiento nutricional deberá estar enfocado en modificaciones de hábitos alimentarios que permitan, además de reducir la ingesta energética total, modificar la distribución de macronutrientes, principalmente grasas, hacia una dieta más saludable desde el punto de vista nutricional y a corregir los niveles de biomarcadores relacionados con insulinorresistencia. Los objetivos para el tratamiento nutricional en insulinorresistencia se definen en la tabla 1.

**Tabla 1. Objetivos nutricionales en el tratamiento de la insulinorresistencia.**

### Antropométricos

1. Reducción de peso corporal gradual y prolongado. Un objetivo factible para la disminución del peso corporal podría incluir la disminución de 100 kcal/día del aporte calórico total.
2. Mejorar la relación cintura/cadera.
3. Disminuir el porcentaje de grasa corporal (efectos de atrofia adipocitaria).

**Tabla 1 (continuación).**

**Bioquímica sanguínea**

4. Mejorar los niveles de colesterol total, relación colesterol HDL/LDL, triglicéridos/HDL y colesterol total/HDL y disminuir los niveles de triglicéridos.
5. Disminuir los niveles de glucosa e insulina preprandial a niveles normales (mejorar sensibilidad a la insulina).
6. Disminuir marcadores de inflamación.
7. Reducir hipertensión arterial.

**Estilos de vida**

8. Fomentar el incremento en la actividad física.

Actualmente existe una diversidad de conocimientos y herramientas que permiten alcanzar los objetivos en el tratamiento de la insulinoresistencia. Tomando como base las recomendaciones nutricionales establecidas, los alimentos funcionales disponibles en el mercado, la capa-

cidad de elaboración de nuevos alimentos funcionales enfocados a la insulinoresistencia y las recomendaciones en actividad física, es posible dirigir tratamientos integrales que incidan tanto en la ingesta energética total como en el gasto energético, como se muestra en la figura 2.

La información que existe sobre el efecto de diversos nutrientes en insulinoresistencia es abundante. La tabla 2 muestra un resumen de las recomendaciones dietéticas establecidas por varias instituciones para el tratamiento de la insulinoresistencia. De forma general se recomienda principalmente un control en el consumo de grasa en la dieta, las cuales no deberán superar el 35% del valor energético total, haciendo especial énfasis a la ingesta de grasa saturada, la cual no deberá superar en la mayoría de los casos más del 10% del valor energético total de la dieta. La resistencia a la insulina (medida por varios

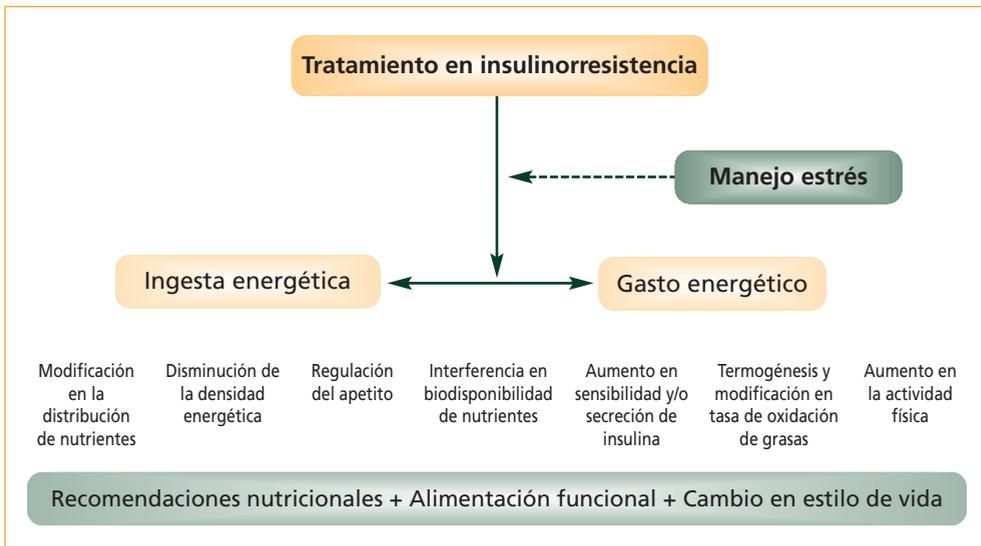


Figura 2. Enfoque integral del tratamiento en insulinoresistencia tomando en consideración tratamientos nutricionales y cambios en el estilo de vida.

**Tabla 2. Recomendaciones nutricionales para el tratamiento de insulinorresistencia.**

	Carbohidratos % energía diaria	Grasa % energía diaria	Proteínas % energía diaria	Grasas saturadas % energía diaria	Grasas mono- insaturadas % energía diaria	Grasas poli- insaturadas % energía diaria	Colesterol mg/día	Fibra g/día	Sodio mg/día
United States Department of Agriculture	55-65	20-30	15	< 10			< 300	20-30	< 2.300
American Heart Association	50-60	25-35	15	< 7			< 300	25	< 2.400
National Cholesterol Education Program Paso I	50-60	25-35	15	< 10	20	10	< 300	20-30	< 2.400
Dietary Approaches to Stop Hipertension	50-60	25-35	15	< 7				20-30	< 1.500
Therapeutic Life Style Changes	50-60	25-35	15	< 7			< 200	20-30	< 2.400
American Diabetes Association	55-65	20-30	15	< 10			< 300		
American Dietetic Association	55-65	20-30	15	< 10			< 300		
Dieta Mediterránea	55	30	15	< 10	15	5	200	20	

índices) está directamente correlacionada con la ingesta de ácidos grasos saturados (Musso *et al.*, 2003). No obstante, se debe tomar en cuenta que, a pesar de que la ingesta de grasas saturadas menores al 7% del valor energético total logran reducir considerablemente los niveles de colesterol total, también tienden a disminuir considerablemente los niveles de colesterol HDL y aumentar de forma significativa los niveles de triglicéridos (probablemente por el aumento del consumo de carbohidratos) (Lefevre *et al.*, 2005). En rela-

ción con las grasas poliinsaturadas, se recomienda que su consumo sea alrededor del 10% del valor energético, de las cuales el 1% del valor energético total debería ser en forma de ácidos grasos omega-3. Los efectos de la suplementación de aceite de pescado en insulinorresistencia en modelos animales es altamente marcada, se observa una disminución considerable en los niveles de triglicéridos, ácidos grasos libres, glucosa e insulina (Lombardo y Chicco, 2006). El consumo de ácidos grasos *trans* debería limitarse al

1% del valor energético total de la dieta, debido principalmente a los demostrados efectos de la ingesta de este tipo de grasa en el incremento de los niveles de colesterol total y al cambio en las relaciones de colesterol LDL-HDL y colesterol total-HDL (Tricon *et al.*, 2004).

Los efectos del consumo de ácidos grasos monoinsaturados en riesgo cardiovascular y perfil de lípidos sanguíneos es ampliamente conocido (Lichtenstein, 2006). De forma resumida, las grasas monoinsaturadas disminuyen los niveles de colesterol total, LDL, LDL oxidada y triglicéridos sin disminuciones significativas en niveles de HDL, generalmente observada en dietas bajas en grasa. De forma más interesante, la sustitución de carbohidratos y grasas saturadas por ácidos grasos monoinsaturados puede producir una disminución en los niveles de glicemia y presión arterial, así como aumentar los niveles de HDL en pacientes diabéticos (Rodríguez-Villar *et al.*, 2004).

El consumo de alimentos con bajo índice glicémico (altos en fibra y bajo contenido de carbohidratos digeribles) puede ser beneficioso para regular los niveles de insulina plasmáticos (Anderson *et al.*, 2004). Se debe hacer especial énfasis en la recomendación de disminuir el consumo de azúcares simples (sacarosa y fructosa) a menos del 10% del valor energético total, ya que pueden ser responsables de niveles elevados de lípidos circulantes debido a la síntesis de novo de lípidos por el hígado y tejido adiposo (McDevitt *et al.*, 2005).

La traducción de estas recomendaciones de ingesta de macronutrientes a la elaboración de dietas para la población general,

es altamente complicada. Una de las propuestas más factible en estos casos es la recomendación dietética basada en alimentos y no en limitaciones de ingesta de macronutrientes. Por ejemplo, la dieta mediterránea basada en la ingesta de frutas, verduras y hortalizas, con un consumo moderado de grasas magras (entre ellas pescado) y la selección de aceite de oliva como principal fuente de grasas, posee un perfil nutricional saludable, en donde existe una alta ingesta de ácidos grasos monoinsaturados, fibra y alimentos con bajo índice glicémico. Los efectos de la implementación de recomendaciones a base de alimentos siguiendo la pauta de la dieta mediterránea en comparación con una dieta prudente (basada en recomendaciones de macronutrientes: 50-60% de carbohidratos, 15-20% de proteínas y menos del 30% de grasas del valor energético total) son sorprendentes. Se observa que los individuos a los cuales se les recomendó seguir una pauta de dieta mediterránea muestran una mayor disminución en el peso corporal, circunferencia de cintura, marcadores de inflamación, glicemia, colesterol total, triglicéridos e insulinoresistencia, así como un incremento en los niveles de HDL y una mejora en la función endotelial en comparación con individuos que siguen una dieta prudente (Esposito *et al.*, 2004). Las recomendaciones de estas pautas dietéticas son en principio más fáciles de cumplir y de llevar.

### **Disminución del contenido energético de alimentos**

De forma natural, los alimentos con densidad energética más baja, como las frutas y verduras, en comparación con los ali-

mentos densamente energéticos, poseen un bajo contenido de grasa y alto contenido de agua y/o fibra dietética, ya que éstos añaden peso a los alimentos sin incrementar su contenido calórico. Un objetivo para la industria de alimentos es ofrecer al consumidor alimentos con un contenido reducido de calorías sustituyendo el contenido en azúcares simples por edulcorantes no nutritivos, grasas por ingredientes con una menor densidad energética y mismas características sensoriales, aumentando el contenido de agua por medio de agentes humectantes y/o aumentando el contenido de fibra dietética.

Actualmente existe una gran variedad de ingredientes alimentarios para la sustitución de grasas y azúcares en alimentos. El objetivo principal de la utilización de estos ingredientes funcionales es la disminución de la ingesta total de calorías. Por ejemplo, el consumo promedio de azúcares simples en la dieta española para el año 2005, según datos de ingesta de alimentos obtenidos por el MAPA (MAPA, 2005), fue de 113 g/persona/día, un 18% del total de calorías ingeridas (2.424 kcal/persona/día), lo cual supera en un 8% la recomenda-

ción dietética de una ingesta de azúcares simples. Los productos lácteos, bebidas, pastelería, bollería, etc., productos diana para la sustitución de azúcares simples por edulcorantes no nutritivos, contribuyen con un 68 y 62% del total de la ingesta de azúcares simples y sacarosa, respectivamente, en la dieta española para el año 2005. Su reemplazo por edulcorantes no nutritivos podría resultar en un déficit de 310 kcal/día aproximadamente.

Con respecto a los sustitutos de grasa, existen productos desarrollados principalmente para asimilar las propiedades organolépticas de la grasa. Se pueden dividir en tres grupos: basados en proteínas, utilizados principalmente en productos lácteos; basados en carbohidratos utilizados en aderezos, productos cárnicos, etc., y basados en grasas modificadas que contienen características organolépticas similares a las grasas, pero con un contenido calórico menor. Entre ellos, por ejemplo, el Olestra®, un poliéster de sacarosa que contiene entre 6 y 8 ácidos grasos por molécula, con propiedades organolépticas similares a las de las grasas típicas, pero que no es hidrolizado por las lipasas del tracto gastrointestinal. Las salatrinas, una mezcla de ácidos grasos de cadena larga (principalmente, ácido esteárico) y de cadena corta de menor contenido calórico (ácido acético, propiónico y butírico), todos ellos esterificados con glicerol, reduciendo considerablemente el aporte calórico por gramo de grasa. El principal inconveniente del uso de sustitutos basados en grasa es la posible disminución en la absorción de vitaminas liposolubles, lo cual debe ser tomado en cuenta en alimentos fuentes de vitaminas liposolubles en la dieta.

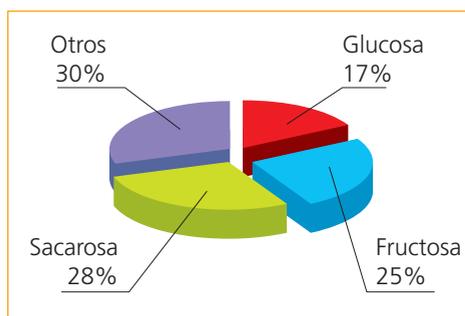


Figura 3. Distribución del consumo de azúcares simples en la dieta española para el año 2005. Información obtenida a partir de la encuesta de alimentación en España para el año 2005.

Otra opción para disminuir la densidad energética de los alimentos es la incorporación de fibras alimentarias (con valor energético en promedio entre 1-2 kcal/g), las cuales incorporan una mayor cantidad de agua y disminuyen la absorción de macronutrientes, como grasa y carbohidratos. Por otro lado, algunas fibras alimentarias producidas a partir de frutas y verduras podrían aportar compuestos antioxidantes también funcionales para el tratamiento de la insulinoresistencia.

Debe considerarse, sin embargo, que un incremento en la ingesta de alimentos con baja densidad energética no es suficiente para perder peso, a menos que estos alimentos desplacen a otros de mayor densidad energética. La selección de alimentos generalmente puede estar influenciada también por su cantidad, volumen o por su peso.

### **Modificación tecnológica sensorial**

El objetivo principal en la elaboración de este tipo de dietas funcionales es producir saciedad a partir de la percepción sensorial del consumidor hacia los alimentos. Es decir, que sensorialmente (vista, gusto y olfato principalmente) se logre producir una sensación “aparente” de saciedad en las primeras fases de la alimentación. Por ejemplo, algunos estudios sugieren que el volumen de la comida ingerida afecta psicológicamente a la sensación de hambre, saciedad y cantidad de comida que los sujetos desean comer (Rolls *et al.*, 2000). En este sentido, un ejemplo podría ser la elaboración de productos por extrucción con un elevado volumen, pero con baja densidad, tanto en peso como en energía.

La saciedad también puede ser inducida a través de la estimulación retro-nasal por el aroma de los alimentos (Ruijschop y Burgering, 2007). Existen ciertas indicaciones de que no todos los tipos de alimentos producen la misma calidad (flavor) o cantidad (intensidad) de estimulación sensorial. La estructura física, en gran medida, parece ser responsable de la estimulación aromática. Por ejemplo, los alimentos sólidos tienden a producir una mayor sensación de saciedad que los alimentos líquidos, probablemente por un mayor tiempo de contacto del alimento en la cavidad oral y, por lo tanto, una mayor estimulación sensorial. En este sentido, el objetivo principal sería la elaboración de alimentos con un mayor regusto por medio de la adición de aromas encapsulados especializados que prolonguen sensorialmente el aroma en la cavidad bucal en alimentos con baja densidad energética.

### **Incremento de saciedad por medio de modificaciones en el contenido de macronutrientes**

La composición en macronutrientes y la densidad energética de los alimentos tienen un papel importante, determinando tanto la saciedad como la frecuencia y tamaño de los episodios de comida. Por ejemplo, las comidas ricas en carbohidratos tienen un elevado índice de saciedad (Rolls *et al.*, 1994), mientras que las comidas ricas en grasa son más atractivas pero menos saciantes que las ricas en carbohidratos. La inducción de saciedad por los componentes grasos de la comida depende de la composición particular de ácidos grasos y de la tasa de digestión. Si la grasa ingerida resiste la digestión y alcanza el intestino de forma más o menos intacta,

puede ser muy efectiva estimulando la saciedad, debido en parte al retardo en el vaciamiento gástrico provocado (Welch *et al.*, 1985). Por otro lado, se ha observado que los triglicéridos ricos en ácidos grasos de cadena media (St-Onge y Jones, 2002) y los ácidos grasos poliinsaturados (Lawton *et al.*, 2000) tienen un poder saciante relativamente elevado.

Los alimentos ricos en proteínas inhiben fuertemente el apetito, ejerciendo generalmente un mayor efecto saciante que los carbohidratos. El efecto saciante de las proteínas se debe probablemente a la activación de la liberación de péptidos gastrointestinales saciantes (Trigazos *et al.*, 1997). La saciedad puede ser inducida tanto por proteínas intactas, como por algunos aminoácidos específicos (Trp, Phe y Tyr parecen ser los más efectivos) o por péptidos específicos, como el aspartame (también edulcorante) (Rogers *et al.*, 1991).

### **Modificación del índice glicémico**

Se ha sugerido que una dieta con bajo índice glicémico puede ayudar al control de la obesidad debido a la capacidad de incrementar el valor saciante de los alimentos y regular el apetito (Brand-Miller *et al.*, 2002; Roberts, 2003). Los alimentos con índices glicémicos elevados promueven una rápida oxidación postprandial de la glucosa a expensas de la oxidación de grasas, lo que puede conducir a una mayor ganancia de peso corporal.

El índice glicémico de un alimento es directamente proporcional al grado de absorción intestinal de carbohidratos; en este sentido, la incorporación de factores que sustituyan carbohidratos simples o

disminuyan la absorción de carbohidratos como la fibra, las grasas e inhibidores de la acción de las enzimas digestivas pueden disminuir el índice glicémico del alimento. No obstante, no todas las estrategias para reducir el índice glicémico de los alimentos son adecuadas en el tratamiento de la insulinorresistencia, por ejemplo, la sustitución de azúcares simples por fructosa, como edulcorante con bajo índice glicémico, como se menciona anteriormente, se ha asociado con un incremento en la adiposidad corporal (Bray *et al.*, 2004). Tras la ingesta de fructosa, la insulina no se incrementa, la leptina se reduce y la ghrelina no se inhibe. Debido a que todas estas hormonas desempeñan importantes papeles en la regulación de la ingesta (la leptina e insulina disminuyen el apetito y la ghrelina lo aumenta), los efectos combinados de un exceso de ingesta de fructosa podrían resultar en una menor inducción de saciedad y un aumento de la ingesta total.

### **Incorporación de ingredientes funcionales**

El avance en los conocimientos de los mecanismos del apetito y gasto energético han abierto una nueva tendencia en la elaboración de dietas funcionales contra la obesidad. Entre los nuevos ingredientes funcionales, se pueden observar cinco corrientes principales, las cuales pretenden ofrecer:

1. Potencial regulación metabólica del apetito, ya sea incluyendo compuestos bioactivos que bloquean señales orexigénicas y/o potencien señales anorexigénicas. Para la generación de dichos ingredientes funcionales, los péptidos sintetizados en el tracto gas-

trointestinal (tabla 3) parecen ser las principales dianas a estimular o inhibir. Actualmente existe un amplio conocimiento sobre sus lugares de síntesis y receptores en donde ejercen su efecto, siendo posible desarrollar productos que estimulen y/o inhiban la secreción de dichos péptidos o que actúen a nivel de los receptores.

También se han estudiado los efectos del triptófano, un aminoácido precursor de la síntesis de serotonina, como un potencial anorexígeno. Algunos autores han señalado que la administración oral de 5-hidroxitriptófano disminuye la ingesta alimentaria, así como una reducción en la ingestión de carbohidratos y una mayor sacie-

dad en sujetos obesos (Cangiano *et al.*, 1992).

- Limitando la biodisponibilidad de macronutrientes. Otra estrategia posible es limitar la absorción de nutrientes en el tracto intestinal limitando la acción de las enzimas digestivas y/o interaccionando con los nutrientes impidiendo físicamente su absorción. El ejemplo más común es el uso de fibra dietética, la cual teóricamente absorbería agua en el tránsito intestinal produciendo un aumento de la saciedad, una menor accesibilidad física de los nutrientes para ser absorbidos y una disminución de la ingestión de calorías por los consumidores.

**Tabla 3. Péptidos gastrointestinales y pancreáticos que regulan la ingesta de alimentos. Posibles dianas de estimulación y/o inhibición de ingredientes activos.**

Péptido	Lugar de síntesis	Receptor donde median los efectos en alimentación	Efectos en la ingesta de alimentos
CCK	Células I, intestino proximal	CCK1R	Disminuye
GLP1	Células L, intestino distal	GLP1R	Disminuye
Oxyntomodulina	Células L, intestino distal	GLP1R y otros	Disminuye
PYY3-36	Células L, intestino distal	Y2R	Disminuye
Enteroestatina	Páncreas exocrino	Subunidad F1-ATPasa $\beta$ ,	Disminuye
APO AIV	Células epiteliales intestinales	Desconocido	Disminuye
PP	Células pancreáticas F	Y4R, Y5R	Disminuye
Amylina	Células pancreáticas $\beta$ ,	CTRs, RAMPs	Disminuye
GRP y NMB	Neuronas myentéricas gástricas	GRPR	Disminuye
Leptina gástrica	Células P gástricas	Receptor de leptina	Disminuye
Ghrelin	Células X/A gástricas	Receptor de ghrelin	Aumenta

El quitosano (producto que se obtiene a partir de la quitina, localizada en los caparazones de los crustáceos) es un polímero con carga positiva que podría enlazar las moléculas de grasa cargadas negativamente en la luz intestinal (principalmente ácidos grasos libres) inhibiendo su absorción. Por otro lado, existen varios compuestos inhibidores de las enzimas digestivas, siendo los más comunes en los alimentos los taninos condensados, que tienen la capacidad de precipitar proteínas (entre ellas, enzimas) disminuyendo su acción. En relación con la absorción de carbohidratos, algunos investigadores han demostrado que ciertos polifenoles (por ejemplo, del té) tienen la capacidad de inhibir *in vitro* la translocación del transportador de glucosa GLUT2 en las células del epitelio intestinal, inhibiendo de esta forma la absorción de glucosa (Kwon *et al.*, 2007). Este mismo efecto se ha comprobado *in vivo* en curvas de tolerancia oral a la sacarosa con y en ausencia de epigallocatequina galato, observando una disminución en los valores de glicemia sanguínea (Serrano *et al.*, 2009).

3. Efecto sobre la termogénesis o la oxidación de las grasas. La termogénesis adaptativa es un conjunto de mecanismos que permiten la disipación de manera regulada de parte de la energía de los alimentos en forma de calor en lugar de su acumulación en forma de grasa. Se han reportado una gran variedad de compuestos que pueden modificar el gasto energético. Por ejemplo, en roedores, un tratamiento agudo con ácido retinoico aumenta la

capacidad termogénica en el tejido adiposo marrón, y esto se correlaciona con una disminución significativa del peso corporal y la adiposidad (Bonet *et al.*, 2000). Los extractos de té verde también estimulan la termogénesis en el tejido adiposo marrón, debido principalmente a la interacción entre su elevado contenido de catequinas y cafeína con la noradrenalina liberada por el sistema nervioso simpático. En conjunto, la acción de la cafeína y catequinas prolonga los efectos estimulatorios de la noradrenalina sobre el metabolismo energético y lipídico. El ácido linoleico conjugado parece tener un efecto basado en la inhibición de la actividad de la lipoproteína lipasa, reduciendo la entrada de lípidos al adipocito.

4. Modificación de la microbiota colónica. La composición de la microbiota intestinal puede afectar la utilización de la energía no digerible de la dieta, así como la forma de almacenaje de la energía por el huésped (Backhed *et al.*, 2004). Por ejemplo, se ha descrito que la composición de la microbiota colónica de ratones obesos ob/ob en comparación con ratones delgados puede diferir hasta en un 50% en algunas poblaciones bacterianas (analizado por 16S rRNA) (Ley *et al.*, 2005). El objetivo sería diseñar dietas funcionales con prebióticos que modulen el crecimiento de géneros de bacterias específicas. No obstante, el conocimiento de la relación entre géneros de bacterias y obesidad aún está en sus inicios.
5. Aumento de secreción/sensibilidad a la insulina. La secreción de insulina

por las células  $\beta$  del páncreas puede ser incrementada modificando las concentraciones de GLP-1 y GIP, hormonas secretadas por el intestino delgado en fase postprandial. La actividad de la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) está ampliamente relacionada con la inactivación y/o degradación de péptidos biológicamente activos que posean L-alanina o L-prolina en el penúltimo aminoácido de la terminal N, como GLP-1 y GIP. Es decir, que el incremento en la actividad de la DPP-IV tiende a disminuir las concentraciones de GLP-1 y GIP circulantes, disminuyendo probablemente la secreción de insulina por las células  $\beta$  del páncreas. Como herramienta terapéutica, para controlar los niveles de hiperglicemia en individuos insulino-resistentes, la inactivación de esta enzima podría dar resultado a mayores niveles circulantes de insulina, mejorando el control glicémico. Actualmente existen varios fármacos diseñados con el fin de inhibir su actividad. Desde el punto de vista nutricional, el diseño de péptidos bioactivos (con L-alanina o L-prolina como penúltimos aminoácidos de la N-terminal) podrían inducir a una disminución de sus efectos hipoinsulinémicos, principalmente por inhibición competitiva de sustratos entre los péptidos bioactivos, GIP y GLP-1.

## Estilos de vida

Si se toma en consideración que la etiología de la insulino-resistencia en un porcentaje importante de los pacientes es a consecuencia de estilos de vida poco saludables y que en gran medida es debido a

un desbalance entre la ingesta de energía y el gasto energético, es necesario también fomentar cambios en el estilo de vida. En este aspecto, además de los hábitos dietéticos, también es necesario insistir en cambios en actividad física, no solamente como una herramienta terapéutica sino que también como una herramienta a largo plazo de mantenimiento de las mejoras en insulino-resistencia introducidas. Por ejemplo, en un meta-análisis del efecto del ejercicio en pacientes con diabetes tipo 2, se puede observar una mejoría entre un 0,4 a 0,8% en los niveles de HbA1c en pacientes que incorporan un plan de ejercicios de resistencia (Snowling & Hopkins, 2006). Incluso planes de ejercicios moderados a intensos durante 6 semanas (tres sesiones de 30 minutos a la semana) muestran una mejoría en la señalización de proteínas implicadas en la cascada de la señalización de la insulina (Holtén *et al.*, 2004).

Los efectos de la inclusión de programas de ejercicio durante el tratamiento pueden estar mediados principalmente por una activación del transportador de glucosa a nivel del músculo esquelético (García-Roves *et al.*, 2003), una mayor tasa de recambio de los depósitos de glucógeno muscular y hepático (Pencek *et al.*, 2005; Price *et al.*, 1999) y a un aumento en el flujo sanguíneo al músculo esquelético (Bisquolo *et al.*, 2005), lo cual implicaría en todos los aspectos un mayor consumo de glucosa y un menor grado de insulino-resistencia.

No obstante, las recomendaciones sobre el tipo, duración y frecuencia del ejercicio aún no están claras y se considera importante la personalización del tipo de actividad física recomendada en relación a

las características personales de cada paciente. La Asociación Americana de Diabetes recomienda por lo menos un total de 150 minutos de ejercicios aeróbicos de intensidad moderada a la semana y/o 90 minutos de ejercicios aeróbicos intensos distribuidos en 3 días a la semana, además de recomendar que no existan más de 2 días sin hacer ejercicio (American Diabetes Association, 2007). Cumplir con esta recomendación implicaría realizar actividad física de lunes a sábado, intercalando días de actividad física intensa (30 minutos) con días de actividad física moderada (alrededor de 50 minutos), lo cual se encuentra muy alejado de la realidad de varios pacientes insulinorresistentes.

### **¿Actividad física de resistencia o de fuerza?**

Las actividades físicas de fuerza generalmente tienden a aumentar el tamaño muscular. Desde un punto de vista energético, cuanto mayor sea el porcentaje de musculatura en el cuerpo, mayor será el gasto energético en condiciones basales (metabolismo basal), lo cual implicaría una mayor necesidad de glucosa. Por otro lado, los ejercicios prolongados de resistencia tienden a disminuir el tamaño muscular, pero producen un aumento en el gasto energético durante el ejercicio, incluyendo un mayor consumo de grasas. Se podría decir que los ejercicios de fuerza muestran efectos crónicos (aumento de metabolismo basal) mientras que los ejercicios de resistencia muestran efectos agudos (aumento de gasto energético durante el ejercicio), aunque posiblemente los efectos agudos puedan tener una duración de 2 a 48 horas (Mikines *et al.*,

1988) debido a la síntesis de novo de glucógeno post-ejercicio. La recomendación debe tomar en cuenta el tipo de población a la cual va dirigida; por ejemplo, los adultos mayores generalmente presentan una masa muscular disminuida además de posibles implicaciones cardiovasculares, por lo que estaría recomendada la implementación de ejercicios de fuerza. Por otro lado, los pacientes insulinorresistentes jóvenes sin implicaciones cardiovasculares y con sobrepeso se beneficiarían más con ejercicios de resistencia.

### **¿Intensidad o duración?**

Los ejercicios de alta intensidad propenden a incrementar el gasto de glucógeno muscular, lo cual tendería a aumentar el recambio de glucógeno, mejorando la sensibilidad a la insulina. Por otro lado, los ejercicios de larga duración tienen una fase anaeróbica en la que generalmente existe un aumento en el consumo de carbohidratos y, pasada esta fase anaeróbica, inician una fase aeróbica con un incremento en el consumo de grasas. Los ejercicios de alta duración tenderán a mostrar efectos agudos en el consumo de energía, mientras que los ejercicios de alta intensidad mostrarán un consumo menor de energía, no obstante, con un mayor recambio de glucógeno y posiblemente con una mayor formación de músculo. La recomendación también deberá estar dirigida en función del tipo de población, si se desea incrementar el gasto energético se deberá recomendar ejercicios de más larga duración y con una frecuencia mayor. El objetivo, independientemente del tipo de actividad física y duración, podría estar enfocado en un

gasto energético entre 1.200 a 2.000 kcal por semana.

Cualquier recomendación de actividad física deberá llevar consigo una evaluación previa de aspectos de seguridad para la implementación de la misma. Alrededor del 6 al 22% de pacientes con diabetes tipo 2 sufren de isquemia de miocardio silenciosa o algún tipo de disfunción cardiaca que podría limitar la intensidad y frecuencia del ejercicio recomendado.

### Otros factores relacionados con el estilo de vida

Conviene destacar también la importancia del estrés crónico con la alteración subsiguiente del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (hipótesis interpretativa central de Björntorp) en la génesis de la obesidad visceral. El estrés puede estar definido como un estado de respuesta homeostática a cualquier tipo de amenaza. En sociedades occidentales, el índice de estrés está altamente correlacionado con obesidad y síndrome metabólico. El estrés crónico, asociado con una hipercortisolemia moderada y activación prolongada del sistema nervioso simpático, favorece la acumulación de grasa visceral. De forma recíproca, la obesidad puede inducir un nivel bajo y crónico de inflamación, mediado por un aumento en la secreción de adipocinas, las cuales pueden estimular crónicamente el sistema de estrés.

Existen varios estudios que demuestran esta relación. De acuerdo a un meta-análisis reciente que incluye estudios prospectivos de depresión y su relación con la predisposición a diabetes tipo 2, la depresión parece aumentar el riesgo de padecer dia-

betes en un 60% (Mezuk *et al.*, 2008). Por otro lado, los individuos diabéticos presentan grados de depresión casi del doble comparado con personas normales (Anderson *et al.*, 2001). Y aunque no existen relaciones claras entre la patogenia del estrés y la etiología de insulinoresistencia, resulta interesante, en este aspecto, que los tratamientos antidepresivos en personas diabéticas parecen mejorar el control glicémico, independientemente de los efectos del tratamiento en el peso corporal (Surwit *et al.*, 2002).

### Conclusiones

Los cambios en los estilo de vida y hábitos alimentarios tienden a influir grandemente en la predisposición a padecer insulinoresistencia. La alta disponibilidad energética junto a una baja actividad dentro de un contexto de vida “estresante” parecen ser los mecanismos responsables de la etiología de la insulinoresistencia. Existen varias herramientas desde el punto de vista nutricional (pautas terapéuticas, compuestos bioactivos y alimentos funcionales) que pueden ser utilizadas fácilmente con el fin de disminuir la ingesta energética total o aumentar el gasto energético. Los niveles de actuación son variados, desde la formulación de alimentos con baja densidad energética hasta herramientas de interferencia de absorción de nutrientes, así como por medio del aumento de sensibilidad/secreción de insulina y termogénesis.

### Bibliografía recomendada

Alegría E, Cordero A, Lacalustra M, Grima A, León M, Casanovas JA, et al. Prevalencia del síndrome metabólico en población laboral

- española: registro MESYAS. *Rev Esp Cardiol*. 2005; 58:797-806.
- American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*. 2007; 30:S4-S41.
- Anderson JW, Randles KM, Kendall CW, Jenkins DJ. Carbohydrate and fiber recommendations for individuals with diabetes: a quantitative assessment and meta-analysis of evidence. *J Am Coll Nutr*. 2004; 23:5-17.
- Anderson RJ, Freedland KE, Clouse RE, Lustman PJ. The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care*. 2001; 24:1.069-78.
- Backhed F, Fing H, Wang T, Hopper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Science*. 2004; 101:15.718-23.
- Bisquolo VA, Cardoso CG Jr, Ortega KC, Gusmao JL, Tinucci T, Negrao CE, Wajchenberg BL, Mion D Jr, Forjaz CL. Previous exercise attenuates muscle sympathetic activity and increase blood flow during acute euglycemic hyperinsulinemia. *J Appl Physiol*. 2005; 98:866-71.
- Bonet ML, Oliver J, Pico C, Felipe F, Ribot J, Cinit S et al. Opposite effects of feeding a vitamina A-deficient diet and retinoic acid treatment on brown adipose tissue uncoupling protein 1 (UCP-1), UCP2 and leptin expression. *J Endocrinol*. 2000; 166:511-7.
- Brand-Miller JC, Holt SH, Pawlak DB, McMillan J. Glycemic index and obesity. *Am J Clin Nutr*. 2002; 76:281S-5S.
- Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM. Consumption of high fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr*. 2004; 79:537-43.
- Cangiano C, Ceci F, Cascino A, Del Ben M, Laviano A. Eating behavior and adherence to dietary prescriptions in obese adults subjects treated with 5-hydroxytryptophan. *Am J Clin Nutr*. 1992; 56:863-7.
- Esposito K, Marfella R, Ciotola M, et al. Effect of a Mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA*. 2004; 292:1.440-6.
- European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab*. 2002; 28:364-76.
- Garcia-Roves PM, Han DH, Song Z, Jones TE, Hucker KA, Holloszy JO. Prevention of glycogen supercompensation prolongs the increase in muscle GLUT4 after exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003; 285:E729-36.
- Holten MK, Zacho M, Gaster M, Juel C, Wojtaszewski JF, Dela F. Strength training increase insulin-mediated glucose uptake, GLUT4 content, and insulin signalling in skeletal muscle in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2004; 294-305.
- Kwon O, Eck P, Chen S, Corpe CP, Lee JH, Kruhlak M, Levine M. Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT 2 by flavonoids. *FASEB J*. 2007, 21:366-77.
- Lawton CI, Delargy HJ, Brockman J, Smith FC, Blundell JE. The degree of saturation of fatty acids influences post-ingestive satiety. *Br J Nutr*. 2000; 83:473-82.
- Lefevre M, Champagne CM, Tulley RT, Rood JC, Most MM. Individual variability in cardiovascular disease risk factors responses to low-fat and low-saturated fat diets in men: body mass index, adiposity, and insulin resistance predict changes in LDL cholesterol. *Am J Clin Nutr*. 2005; 82:957-63.
- Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight R, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Science*. 2005; 102:11.070-5.
- Lombardo YB, Chicco AG. Effects of dietary polyunsaturates n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. *J Nutr Biochem* 2006; 17:1-13.
- MAPA Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. La alimentación en España,

2005. Secretaría General de Agricultura y Alimentación, Madrid, España. 2006.

McDevitt RM, Bott SJ, Harding M, Coward WA, Bluck LJ, Prentice AM. De novo lipogenesis during controlled overfeeding with sucrose or glucose in lean and obese women. *Am J Clin Nutr.* 2001; 74:737-46.

Mezuk B, Eaton WW, Albercht S, Golden SH. Depression and type 2 diabetes over the lifespan: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2008; 31:2.383-90.

Mikines KJ, Farrell PA, Sonne B, Tronier B, Galbo H. Postexercise dose-response relationship between plasma glucose and insulin secretion. *J Appl Physiol.* 1988; 64:988-99.

Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassander M, Rizzetto M, Durazzo M, Fagà E, Silli B, Pagano G. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2003; 37:909-16.

Pencek RR, Fueger PT, Camacho RC, Wasserman DH. Mobilization of glucose from the liver during exercise and replenishment afterward. *Can J Appl Physiol.* 2005; 30:292-303.

Price TB, Rothman DL, Shulman RG. NMR of glycogen in exercise. *Proc Nutr Soc.* 1999; 58:851-9.

Roberts SB. Glycemic index and satiety. *Nutr Clin Care.* 2003; 6:20-6.

Rodríguez-Villar C, Pérez-Heras A, Mercade I, Casals E, Ros E. Comparison of a high-carbohydrate and a high monounsaturated fat, olive oil-rich diet on the susceptibility of LDL to oxidative modification in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2004; 21:142-9.

Rogers PJ, Keedwell P, Blundell JE. Further analysis of the short-term inhibition of food intake in humans by the dipeptide L-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester (aspartame). *Physiol Behav.* 1991; 49:739-43.

Rolls BJ, Kim-Harris S, Fischman MW, Foltin RW, Moran TH, Stoner SA. Satiety after pre-

loads with different amounts of fat and carbohydrate: implications for obesity. *Am J Clin Nutr.* 1994; 60:476-87.

Rolls BJ, Bell EA, Waugh BA. Increasing the volume of a food by incorporating air affects satiety in men. *Am J Clin Nutr* 2000, 72:361-8.

Ruijschop RM, Burgering MJM. Aroma induced satiation possibilities to manage weight through aroma in food products. *Agro Food Industry Hi-Tech.* 2007; 18:37-9.

Serrano J, Boada J, Gonzalo H, Bellmunt MJ, Delgado MA, Espinel AE, Pamplona R, Portero-Otin M. 2009. The mechanism of action of polyphenols supplementation in oxidative stress may not be related to their antioxidant properties. *Acta Physiologica.* 2009; 195:61.

Snowling NJ, Hopkins WG. Effects of different modes of exercise training on glucose control and risk factors for complications in type 2 diabetic patients: a meta-analysis. *Diabetes Care.* 2006; 29:2.518-27.

Surwit RS, van Tilburg MA, Zucker N, McCaskill CC, Parekh P, Feinglos MN, Edwards CL, Williams P, Lane JD. Stress management improves long-term glycemic control in type 2 diabetes: *Diabetes Care.* 2002, 25:30-4.

St-Onge MP, Jones PJ. Physiological effects of medium-chain triglycerides: potential agents in the prevention of obesity. *J Nutr.* 2002; 132:329-32.

Tricon S, Burdge GC, Kew S, et al. Opposing effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80:614-20.

Trigazis L, Orttmann A, Anderson GH. Effect of cholecystokinin-A receptor blocker on protein-induced food intake suppression in rats. *Am J Physiol.* 1997; 272:R1826-33.

Welch I, Saunders K, Read NW. Effect of ileal and intravenous infusions of fat emulsions on feeding and satiety in human volunteers. *Gastroenterology.* 1985; 89:1.293-7.

# Resistencia a la insulina: ¿factor de riesgo o adaptación fisiológica?

**Reinald Pamplona Gras, José Serrano Casasola, Jordi Boada Pallàs, Victoria Ayala Jové, Maria Josep Bellmunt Curcó, Manuel Portero-Otin,** *Nutren UdL, Departamento de Medicina Experimental. Universidad de Lleida.*

**Alberto Espinel González,** *Director en investigación del Grupo Leche Pascual. Doctor en Biología.* **Marco Antonio Delgado Delgado,** *Grupo Leche Pascual.*

## Introducción

La resistencia a la insulina (RI) es una condición típicamente considerada como mecanismo fisiopatológico para la instauración de enfermedades asociadas a desequilibrios entre ingesta-gasto calórico, como la obesidad, el síndrome cardiometabólico u otras (1-3). Sin embargo, como tal, la resistencia insulínica o disminución de señalización celular por insulina y sus efectos para una cantidad dada de la hormona es una parte esencial de la respuesta del organismo en situaciones en las que se debe mantener una glicemia suficiente para órganos y tejidos clave. Por tanto, puede afirmarse sin género de dudas que nuestro organismo debe adaptarse con la resistencia a insulina como respuesta frente a diversos cambios del medio interno y externo, y por consiguiente se sustenta en mecanismos fisiológicos para su mantenimiento. Entre estas situaciones, cabe mencionar la RI que se presenta durante la gestación, con el objeto de generar un gradiente de glicemia entre las circulaciones materna y fetal suficiente para el mantenimiento y desarrollo del embrión y feto (4, 5). En este caso, dicha resistencia se activa en la madre como respuesta a un conjunto de agentes hormonales, destacando en este contexto el lactógeno pla-

centario, de estructura similar a la hormona de crecimiento, una de las hormonas contrarreguladoras de insulina (6-8). En otros estados fisiológicos, como la pubertad, dados los cambios hormonales asociados a la misma, básicamente la presencia en un organismo de andrógenos y estrógenos en cantidades no alcanzadas anteriormente, también puede conllevar un grado de RI remarcable, aunque su significado es menos claro. En este mismo contexto se puede incluir el efecto de RI asociado a la toma de anticonceptivos hormonales, dado que, entre sus efectos, se cuenta una cierta disminución de la sensibilidad insulínica (9). Asimismo, aunque por mecanismos diferentes, tanto cambios cualitativos en dieta, incrementando el consumo de grasas, como la inactividad física o incluso el estrés por inmovilización, conducen a alteraciones en la señalización insulínica (10, 11). Por último, todos aquellos estados que impliquen un aumento de mediadores inflamatorios conducirán a RI, con el fin, en este caso, de mantener un nivel adecuado de glucosa y otros nutrientes en circulación para que tejidos clave en la economía del individuo, como los que conforman el sistema nervioso central, se mantengan en condiciones óptimas (11).

De todo ello, se puede inferir que la RI es un mecanismo adaptativo favorecido evolutivamente, y por tanto, en aquellas situaciones donde persista de forma patológica, debe desgranarse su base funcional para poder proceder al abordaje terapéutico de la misma, con el objeto de permitir su resolución racional. Entre estas situaciones de mantenimiento patológico de la RI cabe destacar la obesidad y, paradójicamente, la desnutrición severa, la hiperuricemia, el exceso en el consumo de alcohol y las formas de diabetes por falta de insulina y sus consecuencias, como la cetoacidosis. Asimismo, como parte del conjunto sindrómico de otras patologías endocrinas, se da la RI. Entre estas endocrinopatías se cuentan los desequilibrios en la producción (sea por déficit o por exceso abrupto) de hormonas tiroideas, y el exceso de efecto de hormonas contrarreguladoras, como la adrenalina (en el feocromocitoma), el cortisol (en el síndrome de Cushing) o la hormona de crecimiento (acromegalia). Por último, cabe indicar que se ha descrito RI como componente de enfermedades con alta frecuencia como puedan ser la hipertensión arterial, la insuficiencia renal crónica, la insuficiencia hepática, la artritis reumatoide, la insuficiencia cardíaca, la distrofia miotónica, traumatismos graves e incluso en la caquexia neoplásica (12-14).

En el contexto de la RI más típica, la asociada a la obesidad o al desequilibrio en la homeostasis calórica, cabe presentar la RI como resultado de la interacción de un sustrato genético permisivo (con conformación genética favorable al acúmulo calórico en tejidos como el adiposo, las células beta de los islotes pancreáticos y otros) con un ambiente predisponente

(inactividad física, exceso calórico). Esta combinación patogénica conduciría a cambios, enmarcables en un contínuum, que finalizarían en la diabetes tipo II: yendo desde la fase de RI con hiperinsulinemia (facilitada por la compensación secretoria de las células beta), seguida de alteraciones en la misma célula beta (caracterizada clínicamente por tolerancia alterada a la glucosa) y finalizando con la pérdida funcional y morfológica de células beta, con hiperglicemia franca e hipoinsulinemia [revisado en (15)].

La señalización de insulina se inicia a través de la interacción con el receptor de insulina, con dimerización de sus unidades y activación de su carácter quinasa en subunidades beta. Esta fosforilación en la parte intracelular del receptor de insulina permite su interacción con proteínas, como los sustratos de receptores de insulina (IRS), que a su vez se fosforilan por la misma actividad quinasa de la subunidad beta del receptor de insulina. Esta fosforilación de IRS permite, por un lado, su interacción con la quinasa PI3K, quien, a través de su interacción con proteínas como PDK1, llevará a la fosforilación de AKT, proteína relevante en los efectos metabólicos de la insulina. Por otro lado, la fosforilación de IRS, a través de la interacción con proteínas como Sos, Grp2 o Shp-2, llevará a la activación de Ras y Mapk, conllevando los efectos proliferativos de la insulina (16). Merece la pena destacar que, según diversos autores, la RI no es simétrica para ambos tipos de efectos. Así, los efectos proliferativos no mostrarán alteraciones en situaciones de RI, con lo que las consecuencias deletéreas del exceso de proliferación celular (p. ej.: en los vasos san-

guíneos) podrían verse exacerbadas por el exceso de insulina presente en algunas fases de la RI (15, 17).

### IRS y RI

Entre los defectos moleculares asociados a la alteración de la señalización de la insulina destacan las alteraciones de los IRS (figura 1). Por un lado, la fosforilación en determinados residuos de serina y treonina, así como la disminución en la expresión de IRS, se han descrito tanto en estados de RI como en pacientes diabéticos. La fosforilación anómala de IRS impide su interacción con el receptor de la insulina, con proteínas señalizadoras posteriores y conduce a la degradación de la proteína. Ello se comprueba en varios modelos de RI, como los inducidos

por el exceso de factores inflamatorios como TNF- $\alpha$  o IL-6, por los ácidos grasos libres, así como por la misma hiperinsulinemia (18-21). Entre los residuos implicados destaca la fosforilación de IRS1 en Ser 312 (Ser 307 en ratones), en una localización cercana al dominio de unión a fosfotirosinas (PTB), dominio necesario para la interacción con el receptor de insulina. Entre los factores que catalizarían la fosforilación en Ser 307 cabe contar con la actividad quinasa de la quinasa de c-Jun (JNK), una de las quinasas activadas en situación de inflamación aguda y/o crónica. Como prueba de ello, los ratones con déficit de JNK, muestran mayor sensibilidad a insulina y una menor incidencia de RI tras tratamiento con una dieta hiperlipídica (22). Sin

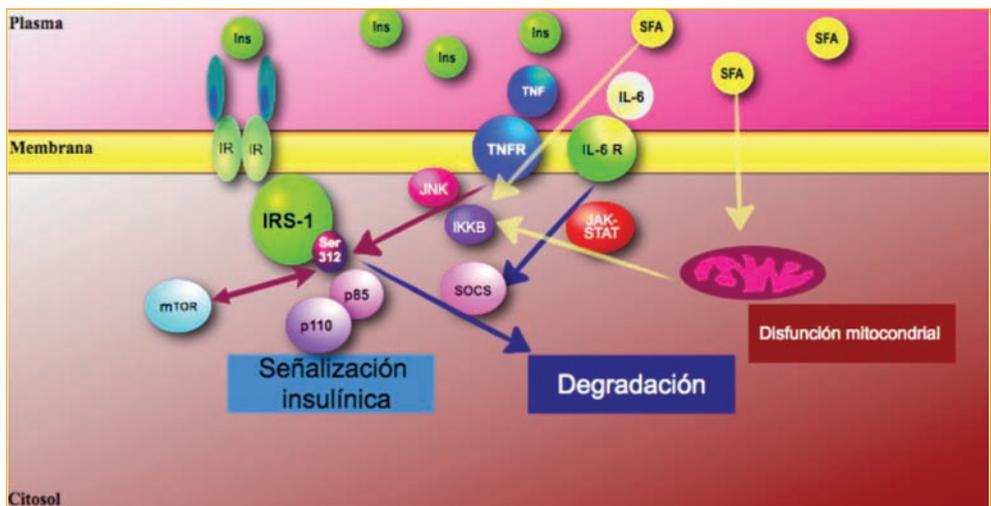


Figura 1. Señalización y RI. La dimerización del receptor de insulina (IR), mediado por la insulina (Ins), permite el reclutado y la fosforilación de proteínas como el sustrato al receptor de insulina 1 (IRS-1), que, mediante la interacción con las subunidades p85 del complejo PI-3-quinasa, conduce a la señalización insulínica. En casos de RI, tanto la interacción del factor de necrosis tumoral (TNF) con su receptor (TNFR) o el de otros mediadores inflamatorios como IL-6, activarán diversas vías de estrés (IKKB, JNK, JAK-STAT) que, por fosforilación de residuos de Ser inactivados en IRS-1, como por su degradación aumentada vía SOCS, conducirán a RI. A ello cabe sumar la interacción directa de los ácidos grasos saturados (SFA), con capacidad para potenciar la activación de las vías de estrés citadas, tanto directamente como a partir de fenómenos de disfunción mitocondrial.

embargo, no solo JNK esta implicada en la fosforilación anómala de IRS1. Cabe contar a IKK-beta o incluso la diana en mamíferos de rapamicina (mTOR) que pueden fosforilar el residuo Ser 307, entre otros, como los cercanos al extremo carboxiterminal contiguos a tirosinas implicadas en la interacción activadora con proteínas señalizadoras, como la subunidad de 85 kDa de la PI3K (23). En otro nivel, ya no sólo la fosforilación anómala de IRS1, sino su degradación acelerada merced a la interacción con proteínas, como el supresor de señalización por citoquinas (SOCS), pueden alterar la señalización insulínica (21, 24, 25). Dado que la expresión de SOCS aumenta tras la exposición a citoquinas, como IL-6 a través de la estimulación de quinasas tipo Janus (JAKs) y fosforilación de activadores de transcripción como STAT, se establece una doble vía por la que los agentes proinflamatorios pueden alterar la señalización de insulina ligada a IRS1: por un lado, se produciría la fosforilación inhibitoria en IRS1, y por otro lado, disminuiría la cantidad de IRS1 disponible, vía su ubiquitinización y degradación ulterior vía proteasomal, mediada por SOCS. Apoyando esta hipótesis, los ratones con déficit de SOCS1 muestran una mayor sensibilidad a insulina. Frente a estos hallazgos, datos recientes demuestran que la substitución en modelos transgénicos del residuo 307 por alanina, en contra de mejorar la señalización a insulina, la disminuyen. Ello demuestra la importancia de la selección del modelo experimental y la precaución con la que deben interpretarse los resultados obtenidos en un contexto experimental no humano (26).

## PI3K y RI

Entre las alteraciones de las proteínas de señalización insulínica, recientemente se ha descrito el papel de las subunidades de 110 y 85 kDa de la PI3K en el desarrollo de RI. Mediante la inactivación específica para la isoforma alfa de la subunidad de 110 kDa de PI3K, se ha demostrado que su expresión hepática puede ser clave para la homeostasis insulínica del organismo. Así, la delección en ratón de esta isoforma resulta en una señalización insulínica muy defectuosa, con pérdida marcada de generación de inositol-trifosfato y una pérdida de la activación de Akt derivada de insulina, déficits no rescatables por otra de las isoformas de p110, la beta. Como resultado, los ratones con déficit de la subunidad alfa de p110 muestran RI, tolerancia a la glucosa alterada e incrementos en la gluconeogénesis, con hipolipidemia e hiperleptinemia. Dado que este síndrome diabético no es sensible a la administración de metformina, se deduce que en roedores la isoforma alfa de la subunidad p110 de PI3K hepática es necesaria para facilitar la entrada de glucosa en hígado, aumentar la masa muscular y disminuir la cantidad de tejido adiposo por una rederivación de la glucosa hacia hígado y músculo (27-29). Asimismo, ello pone de manifiesto la complejidad de la interrelación existente entre los tres tipos tisulares (hígado, músculo esquelético y tejido adiposo) clásicamente sensibles a la insulina.

## Tejido adiposo: cuando más no es mejor

La relación entre acúmulo de tejido adiposo y la RI está, hoy por hoy, fuera de duda.

Sin embargo, existen diversas cuestiones a dirimir, como son la relación entre la inflamación de este tejido y la RI, la importancia de la localización del tejido adiposo y/o acúmulo de lípidos (tanto a nivel anatómico, como celular) y la RI, y la no menos relevante relación entre las especies de ácidos grasos acumuladas y su potencial papel patogénico.

Existe acuerdo en considerar que, globalmente, a un mayor índice de masa corporal, existe una menor sensibilidad a la insulina. Si se tiene en cuenta los niveles absolutos de peso corporal, para alcanzar una determinada señalización insulínica se debe secretar una cantidad de insulina hasta tres o cuatro veces superior en aquellos individuos con una mayor masa corporal (en especial en valores de IMC > 32 kg/m<sup>2</sup>). Ello sugeriría que en casos de normopeso e incluso en sobrepeso moderado el tejido adiposo podría contribuir al mantenimiento de la tolerancia de glucosa (17, 30). En este sentido, se establece la incógnita de cuál es el cambio desde el sobrepeso moderado hasta la obesidad más avanzada o, planteado de otro modo, cuál es la alteración que implica el paso de un tejido adiposo que contribuye a la insulinosensibilidad (situación fisiológica) hasta un tejido adiposo claramente implicado en insulinoresistencia (situación patológica).

Para la respuesta a esta cuestión trascendental, debe tenerse en cuenta la función endocrina de este tejido [revisada en (31)]: entre los factores secretados destacan la *leptina*, implicada (en casos de déficit o su alteración) en la RI, la artritis reumatoide, la osteoartritis, determinadas enteritis y hepatitis e incluso en ciertas formas de encefalomiелitis; la *visfatina*, presente en

la etiopatogenia de diabetes tipo II, la artritis reumatoide, e insuficiencia pulmonar; la *resistina*, afectada en la obesidad, en el síndrome de apnea-sueño, en insuficiencia renal crónica, en la arteriosclerosis y en la esteatosis hepática no asociada a alcoholismo; la *adiponectina*, alterada en arteriosclerosis, obesidad, artritis reumatoide y la osteoartritis; y un número no inferior a la cuarentena de otros factores con papel endocrino. Mención aparte merece la capacidad secretora de ácidos grasos por parte del tejido adiposo, que más allá de la función de transporte energético hacia localizaciones donde se desarrolla la  $\beta$ -oxidación, puede tener un papel señalizador. De hecho, la secreción de ácidos grasos no esterificados es uno de los parámetros que más aumenta con la obesidad, y que puede conducir a RI en términos experimentales (3). Así, en líneas generales, existe una relación inversa entre sensibilidad a la insulina y concentración plasmática de ácidos grasos libres. De hecho, la resistencia del efecto de la insulina sobre la lipólisis, normalmente inhibitorio sobre el tejido adiposo, genera una situación en la que tanto los tejidos periféricos como el hepático estará sometido a concentraciones suprafisiológicas de ácidos grasos libres. Consecuentemente, dado que los propios ácidos grasos causarían RI, ello perpetuaría la inhibición de la lipólisis, conllevando un círculo vicioso. De acuerdo a la hipótesis de Randle, los ácidos grasos libres además impedirían la captación de glucosa en músculo esquelético, y en hígado serían incorporados a los triacilglicéridos de forma rápida (32), con lo que se potenciaría la hiperlipemia. Esta última circunstancia explicaría por qué los sujetos con RI, sean obesos o

no, muestran niveles aumentados de triacilglicéridos circulantes.

### **¿Grasa?: sí, gracias, pero ¿cuándo, dónde y cómo?**

Como parte del mencionado cambio de función en el tejido adiposo, cabe indicar que el exceso de nutrientes y la ganancia ponderal resultan en un cambio en el tejido adiposo caracterizado anatómicamente por el incremento de tamaño del adipocito y de la masa adiposa total. Ello, al margen del ya citado incremento en la liberación de ácidos grasos en plasma, puede resultar en un déficit de la irrigación tisular. La combinación de esta microhipoxia con exceso de nutrientes puede llevar a la inducción del factor de respuesta a hipoxia (HIF) y al advenimiento de un tipo de estrés celular, el de retículo, que participa en diversas alteraciones celulares con potencial patológico (33, 34). Si la causa del estrés de retículo no se corrige, el adipocito puede entrar en un proceso de muerte celular programada, que conllevaría un primer estímulo inflamatorio. Adicionalmente, sin necesidad de muerte adipocítica, otros datos apoyan la hipótesis de que el adipocito, frente a un exceso de crecimiento, puede aumentar la expresión de citocinas inflamatorias. Sea con participación de fenómenos de muerte o sin ellos, este conjunto de estímulos conducirá a la liberación de citoquinas, como TNF- $\alpha$ , IL-6, leptina, resistina, y de quimiocinas, como MCP-1, que junto con cambios en el endotelio del tejido adiposo implicado —con expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1; VCAM-1)— mediarán un proceso de infiltración de monocitos-macrófagos circulantes por la interacción con sus recepto-

res a integrinas y a quimiocinas (35). Tras su entrada en el tejido adiposo, estos macrófagos perpetuarán la inflamación con la secreción de citocinas proinflamatorias que, por un lado, empeorarán la RI a un nivel paracrino, en adipocitos de la vecindad (dado que las quinasas de serina descritas en los apartados anteriores son sensibles a estas citocinas), y por otro lado, pueden incluso comportarse como mensajeros endocrinos, llevando a RI a tejidos más lejanos. A su vez, estas citocinas permitirán la entrada de nuevos macrófagos, potenciando la inflamación de bajo grado. Este fenómeno de infiltración macrofágica puede darse incluso en tejidos adiposos ectópicos, como el que se acumula en músculo esquelético en el caso de exceso calórico, y, a su vez, las citocinas producidas localmente en el músculo contribuirían paracrinamente a la RI muscular. A ello cabe añadir que los ácidos grasos libres pueden actuar como ligandos de otras células inflamatorias, como las células de Kupffer hepatocíticas, perpetuando el estado inflamatorio y de RI en las personas afectadas. Globalmente, se acepta que no sólo el adipocito es protagonista del proceso de RI, sino que el equilibrio entre endotelio-monocito-adipocito es un referente funcional clave en los cambios del tejido adiposo que conllevan la RI.

No todo el tejido adiposo es, sin embargo, igualmente susceptible a los cambios indicados. Así, se atribuye clásicamente una mayor patogenicidad al tejido adiposo blanco denominado *visceral*—que incluye el localizado en mesenterio, retroperitoneo, omento, pericardio y perinefros—. Pese a que la cantidad de tejido adiposo visceral se cuantifica adecuadamente

mediante tomografía axial computarizada u otras técnicas de imagen relativamente sofisticadas, se puede obtener una buena estimación de la cantidad de tejido adiposo visceral mediante la medición de la relación entre perímetros de cintura y de cadera. La influencia deletérea del tejido adiposo visceral se hace especialmente evidente en las primeras fases de la RI, donde para individuos aún con sensibilidad adecuada a insulina, la acumulación de tejido adiposo visceral muestra una relación exponencial con la posible RI, mientras que en individuos ya insulinoresistentes el exceso de tejido adiposo visceral contribuye, pero no tan definitivamente, a la RI (36).

Una vez postulado cuál puede ser el cambio patogénico en el tejido adiposo que conlleva la RI, los ácidos grasos libres, a través de un mecanismo aún en discusión, pueden exacerbar los mecanismos de la misma, como se ha indicado en su papel de activación de receptores inflamatorios. Además, la captación de ácidos grasos libres aumentada en situaciones de RI temprana genera en el hepatocito y en el miocito estriado un cambio patogénico. Cabe recordar que los ácidos grasos, una vez en el citosol, son modificados con coenzima A, y el intermediario así formado puede seguir hacia dos caminos: la de almacenado (vía formación de ácido lisofosfatídico, fosfatídico, diacilglicerol y triacilglicerido) o la de oxidación (por la síntesis de acilcarnitinas) (37, 38). Cuando la entrada de ácidos grasos excede la capacidad de ambas vías se produce la acumulación de intermediarios —como los ácidos fosfatídicos o las ceramidas— que activan las serina-quinásas indicadas anteriormente: JNK, IKK, mTOR u otras, como determinadas isoformas de proteína-quina-

sa C, disminuyendo la capacidad de respuesta a insulina por fosforilación inactivadora de IRS1. Además, las ceramidas pueden inhibir de forma directa la activación de Akt. En el caso concreto del hígado, la sobrecarga calórica causante de la RI incrementa los niveles de malonil CoA, promoviendo la síntesis de ácidos grasos *de novo* e inhibe la carnitina-palmitoil transferasa (CPT1), enzima clave para facilitar la  $\beta$ -oxidación. Como resultado, los ácidos grasos no pueden interiorizarse en la mitocondria (conllevando una disminución de la  $\beta$ -oxidación y de la actividad de transporte de electrones y la consiguiente generación de ATP) y son dirigidos hacia vías de almacenado como triacilglicéridos, empleando las enzimas de su biosíntesis, tales como la glicerol-3-fosfato aciltransferasa 1, la diacilglicerol aciltransferasa-1 o la serina palmitoiltransferasa 1. Si, por exceso de sustrato, estas enzimas permiten la acumulación de los intermediarios indicados anteriormente, se produce la activación de las serina-quinásas de estrés enumeradas anteriormente, que, en el caso del hepatocito, impedirán la supresión insulínica de la gluconeogénesis, reforzando la síntesis lipídica y restringiendo la  $\beta$ -oxidación.

Para el miocito, esencialmente se dan los mismos fenómenos, aunque con la particularidad de que los ácidos grasos llevarán asimismo a la activación de dianas del receptor del activador de la proliferación peroxisomal (PPAR)  $\delta$  y  $\alpha$ , hecho que implicaría un aumento de la  $\beta$ -oxidación sin incremento del flujo del ciclo de Krebs. La desproporción entre incremento de la  $\beta$ -oxidación y el ciclo de Krebs implicaría la acumulación de subproductos de la oxidación lipídica (algunos con

carácter de radical libre, otros como las ya referidas acilcarnitinas) que de nuevo activarán las serina-quininas de estrés, que en el caso del músculo esquelético impedirán la translocación de las vesículas con GLUT4 y la consiguiente entrada de glucosa en el músculo. Merece destacarse que la conocida efectividad de la actividad física sobre la RI, sobrepasando el mero consumo calórico, actuaría en RI a través precisamente de: i) un mayor acoplado entre la  $\beta$ -oxidación y ciclo de Krebs (disminuyendo la cantidad de acilcarnitinas y los subproductos de oxidación lipídica), ii) una mayor dotación de defensas antioxidantes y iii) una mayor actividad de factores que como el coactivador  $\alpha$  de PPAR $\gamma$  (PGC- $\alpha$ ) permiten un consumo del exceso de ácidos grasos intracelulares y por tanto restauran la sensibilidad a la insulina. Este cambio en la función mitocondrial explicaría la denominada *paradoja del atleta* (39). En los atletas se objetiva acumulación de lípidos —triacilglicéridos— en el interior de sus fibras musculares. Curiosamente, estos son los mismos lípidos que se correlacionan con la pérdida de sensibilidad a insulina en individuos obesos. Esta aparente paradoja o cómo en el caso del deportista estos lípidos no conllevan RI y sí lo hacen en el obeso se explica porque en el primer caso, con el ejercicio físico, se producirá un consumo de los mismos, impidiendo la acumulación de intermediarios de su formación (diacilglicéridos, ceramidas, ácidos lisofosfatídicos) y se producirá el acoplamiento entre la  $\beta$ -oxidación y ciclo de Krebs, evitando el estrés oxidativo y la activación de las indicadas proteínas de estrés. Por contra, en el individuo obeso no se produce una movilización de estos depósitos energéti-

cos, conllevando la acumulación de las sustancias anteriormente indicadas.

### Lipotoxicidad

Al margen del músculo esquelético e hígado, la acumulación de lípidos en el contexto de RI se puede dar en órganos como el páncreas, corazón, riñón y vasos sanguíneos. Las consecuencias potencialmente deletéreas de esta acumulación se engloban bajo el término de *lipotoxicidad*, o disfunción y muerte celular asociada a la acumulación ectópica de lípidos. Así, demostrando la validez de diversos estudios en cultivo celular, o en modelos experimentales murinos, donde el exceso de lípidos intramiocárdicos puede ser un factor causal en la insuficiencia cardiaca asociada a obesidad, estudios en pacientes humanos demuestran que existe una correlación entre la acumulación de triacilglicéridos miocárdicos y las anomalías tempranas de la función cardiaca (40, 41). Cabe mencionar que los ácidos grasos saturados de cadena larga (p. ej.: palmitato) a altas dosis inducen apoptosis en células endoteliales, fibroblastos, células  $\beta$  pancreáticas y hepatocitos, sobre todo si se acompaña de incrementos en la concentración de glucosa (*glucolipotoxicidad*). En claro contraste con estos resultados, se demuestra que los ácidos grasos insaturados no presentan las mismas propiedades deletéreas (42-44). Con interés en nutrición, la adición simultánea de ácidos insaturados a los saturados rescata de la lipotoxicidad de estos últimos. La diferencia no radicaría en la entrada la  $\beta$ -oxidación o en retículo endoplasmático, sino en el hecho de que sólo los ácidos grasos saturados de cadena larga son sustratos de la ceramida sintasa y la serina palmitoil-

transferasa, enzimas implicadas en la síntesis *de novo* de ceramidas, conjunto de lípidos utilizados como segundos mensajeros por diversos estímulos apoptóticos. Adicionalmente, el palmitato puede contribuir a la generación de fosfolípidos con ácidos grasos saturados en ambas posiciones de esterificación, moléculas que no son un sustrato adecuado para vías metabólicas clave que dependen de la composición de los fosfolípidos en su función, como la biosíntesis de cardiolipina, con lo que la cantidad de este fosfolípido mitocondrial decrecería y alteraría la membrana mitocondrial interna con potencial liberación de citocromo C, facilitando de este modo la apoptosis. Adicionalmente, los ácidos grasos saturados pueden alterar otros fosfolípidos mitocondriales, conduciendo a un incremento en la producción de radicales libres, o incluso fosfolípidos del retículo endoplasmático, conllevando una situación de estrés de retículo.

Respecto a la interacción entre lipotoxicidad y estrés oxidativo, diversos modelos experimentales de RI y en pacientes con RI demuestran incrementos en la concentración circulante de productos de oxidación en relación con la hiperlipidemia; además, el tratamiento con antioxidantes mejora la función tisular en diversos modelos murinos de lipotoxicidad (45, 46). Cabe destacar que no sólo el músculo esquelético o la célula  $\beta$  sería una diana de la lipotoxicidad, destacando las células endoteliales de grandes arterias (una de las células clave en arteriosclerosis), remediando lo que sucede tras la hiperglucemia crónica típica de la diabetes ya instaurada. Así, se sabe que la alta concentración de glucosa celular y los cambios inducidos a

nivel mitocondrial por la misma son mediadores imprescindibles para la generación de productos avanzados de glicación (AGE), activación de isoformas patogénicas de proteína-quinasa C, modificación por N-acetil-glucosamina y activación de la vía de los polioles que contribuyen a la etiopatogenia de las complicaciones crónicas de la diabetes, a través de la alteración de las células endoteliales como consecuencia de la hiperglicemia.

En el contexto de la lipotoxicidad, el exceso de ácidos grasos libres en células endoteliales macrovasculares podría, en caso de no tener suficiente función mitocondrial, conducir a una sobreproducción de radicales libres por exceso de NADH y otros equivalentes reductores, especialmente FADH —en el caso de los lípidos— que conduciría a un aumento en el estado de reducción del complejo I, que es uno de los factores más determinantes en su capacidad de producción de radicales. Esta insuficiencia relativa por parte de los complejos de la cadena respiratoria y la producción de ATP podría resolverse gracias a un incremento de las actividades desacoplantes (vía expresión aumentada de UCPs o un incremento de su actividad), o por una mayor cantidad de mitocondrias (figura 2). En este sentido, es interesante destacar que se ha propuesto que la RI podría ser un sistema de defensa antioxidante celular, dado que en una situación de exceso de nutrientes circulantes, el hecho de tener RI, es decir, dificultar la entrada de sustratos en citosol y, en consecuencia, en la mitocondria, sería un mecanismo que conferiría ventajas a la célula, al evitar la sobrecarga mitocondrial.

Adicionalmente a los cambios en la membrana mitocondrial, a través de alteracio-

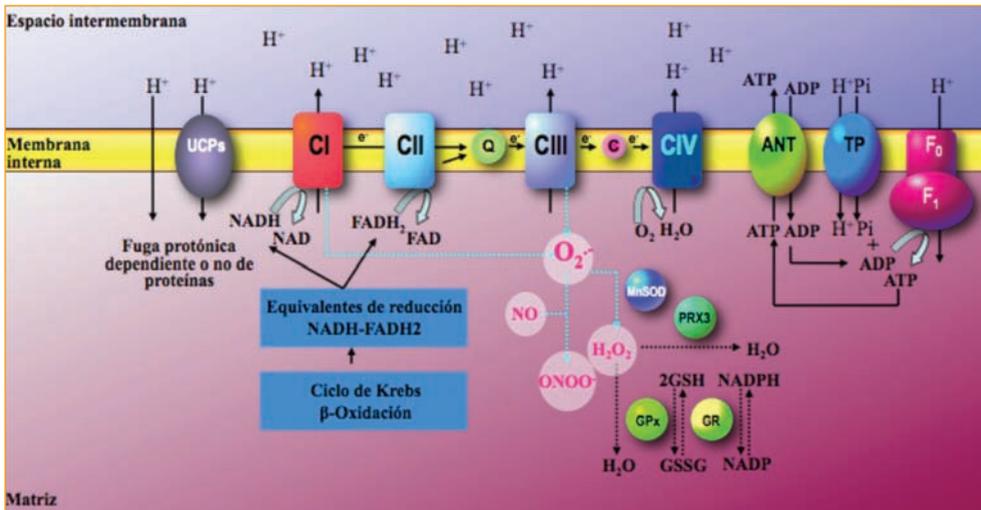


Figura 2. Radicales libres y RI. La cadena de transporte electrónico, a través de los complejos respiratorios es la encargada de transformar los equivalentes de reducción (NADH y FADH<sub>2</sub>) en un potencial electroquímico destinado a la producción de ATP. En condiciones de sobrecarga de sustratos oxidables, como los ácidos grasos y la glucosa, se puede producir un acúmulo de estos equivalentes de reducción, aumentando el grado de reducción de los complejos I y III, conllevando un incremento de la producción de radicales libres. Ésta se puede mitigar, proximalmente, a través de un desacoplado aumentado (vía UCP o por fuga protónica dependiente o no de proteínas de membrana) y distalmente a través de la actividad de los diversos enzimas antioxidantes (glutatiox peroxidasa, glutatiox reductasa, superóxido dismutasa, peroxiredoxina 3) presentes en la matriz mitocondrial. Diversos autores plantean que la resistencia a la insulina, que resultaría en una disminución de la entrada de sustratos oxidables, sería una respuesta antioxidante muy inicial en este proceso. Una vez se diera la RI de forma mantenida, el propio estrés oxidativo podría, a través de la activación de quinasas de estrés, perpetuar la RI, iniciando un círculo vicioso en el cual el suplemento de antioxidantes de forma indiscriminada no comportaría un beneficio, al interferir con las respuestas antioxidantes celulares, más potentes y adecuadas.

nes en la actividad de los complejos I o III de la cadena respiratoria, existen evidencias de la participación de un productor extramitocondrial de radicales libres, la NADPH oxidasa, enzima que es activada por ceramida y diacilglicerol (metabolitos que se acumulan tanto en tejido muscular como en hígado en situaciones de RI) (44, 47, 48). Por tanto, los datos apuntan a priori a que el estrés oxidativo puede ser un factor clave en la lipotoxicidad. No obstante, como se discutirá posteriormente (ver sección de "Estrés oxidativo: ¿siempre negativo?"), no se pueden establecer generalizaciones sobre un papel deletéreo

de los radicales libres en la fisiopatología de la RI.

Con referencia al estrés de retículo, se ha descrito que, al menos en cultivo celular, el suplemento de ácidos grasos saturados a cultivos de células β pancreáticas conduce a alteraciones en la estructura del retículo endoplasmático y a su estrés (49, 50). De forma muy destacable, la inhibición de este mecanismo, inicialmente protector, conlleva una mejora en la RI, conduciendo a una menor hiperglicemia en obesidad (51). Adicionalmente, la pérdida de genes que participan en el estrés de retículo, como el factor

eEF1A-1 o el ARN no codificante gadd7, inhiben la muerte celular causada por lipotoxicidad.

Es destacable que las dos vías de metabolismo de ácidos grasos (almacenamiento por síntesis de triacilglicéridos o  $\beta$ -oxidación mitocondrial) pueden proteger inicialmente de lipotoxicidad, de forma análoga a lo expuesto en el papel de los lípidos en RI en músculo. Así, la partición de los ácidos grasos hacia situaciones de almacenado, facilitado por la sobreexpresión de enzimas, como estearoil CoA desaturasa o la diacilglicerol-aciltransferasa 1, conlleva una disminución de los intermediarios lipotóxicos diacilglicerol y ceramida, aumentando la resistencia a lipotoxicidad (52). Por otro lado, la activación de AMP quinasa, que aumenta  $\beta$ -oxidación, conduce a una menor lipotoxicidad en mioblastos y células endoteliales (49, 53). Sin embargo, en condiciones de exceso de lípidos la  $\beta$ -oxidación incompleta puede ser un factor que permita la acumulación de intermediarios tóxicos, como se ha indicado anteriormente, y contribuir a la lipotoxicidad (54). En consecuencia, el estado funcional y estructural de la mitocondria no es sólo un concepto clave en la acción protectora o no de la  $\beta$ -oxidación sino que puede constituir uno de los factores claves que relacionen exceso de ácidos grasos y RI (55).

Por último, merecen destacarse estudios recientes que demuestran el papel señalizador de las denominadas *lipoquinas* o sustancias lipídicas secretadas por el adipocito. Entre ellas, destaca el ácido palmítico (C16:1 n7), que en modelos experimentales de lipogénesis forzada genéticamente, conduce a un incremento en la sensibilidad insulínica del músculo

esquelético y del hígado (56). Estudios más recientes ponen de manifiesto que en humanos con RI el ácido palmítico circulante correlaciona positivamente con la sensibilidad insulínica, con independencia del género, edad y adiposidad, llegando a cambios en el doble de sensibilidad dentro del rango fisiológico de concentraciones de ácido palmítico (57). Globalmente, se demuestra que ya no tan sólo la dicotomía saturación-insaturación resulta de interés en la relación entre RI y tejido adiposo, sino que las aproximaciones a los papeles fisiológicos de los ácidos grasos individuales pueden ser fuente de nuevas vías de tratamiento de la RI.

## Mediadores metabólicos en RI

Al margen del relevante papel del tejido adiposo, una serie de diversos mediadores metabólicos, como el sistema de análisis energético basado en AMP-quinasa, el estrés oxidativo y diversas sustancias de origen intestinal, pueden ser protagonistas de los nuevos descubrimientos de la etiopatogenia de la RI en los próximos años.

### AMPK: ¿una vía en el tratamiento de la RI?

El complejo AMP-quinasa (AMPK) es un conjunto heterotrimérico de las subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , constituyéndose en uno de los sistemas vigía de la cantidad de energía disponible para las diversas actividades celulares. La subunidad  $\alpha$  se activa por fosforilación por proteínas, como la CaMKK y LKB1, cuya actividad, a su vez, está controlada por los niveles de calcio intracelular libre y por la relación AMP/ATP, respectivamente. Genéricamente, la activación de AMPK conduce a

la recuperación energética de la célula a través de la activación de procesos, como la  $\beta$ -oxidación y la captación de glucosa, y la inhibición de vías de consumo energético, como la síntesis proteica (58-60). En relación con la RI, la activación de AMPK conduce en el músculo esquelético a un incremento en la captación de glucosa y a la oxidación de lípidos, de forma aguda, y a la biogénesis mitocondrial, de forma más continuada. Por tanto, es capaz de reproducir parte de los efectos de la señalización insulínica. Por otro lado, la activación de AMPK en hígado conduce a una inhibición en la síntesis de glucosa y lípidos, aumentando asimismo la  $\beta$ -oxidación. En tejido adiposo, su activación disminuye la lipogénesis y la lipólisis, reproduciendo parcialmente los efectos de la insulina. El resultado neto de una activación de AMPK en estos tres tejidos es la generación de un medio metabólico favorable a la prevención de RI: reducción en lipemia y glicemia, disminución de la deposición ectópica de grasas y mejora de la señalización insulínica. Dicho efecto integrado es también producto de un incremento de la actuación de adiponectina, una de las hormonas "protectoras" frente a la RI, secretadas por el propio tejido adiposo. Asimismo, es destacable que la activación de AMPK en hipotálamo puede modular las funciones del centro orexigénico y anorexigénico (ver sección de "RI: ¿está todo en la cabeza?"). Así, la leptina, producida por el tejido adiposo en caso de su crecimiento, inhibe AMPK de células hipotalámicas, y conduce a una mayor degradación lipídica en tejido muscular a través del sistema nervioso simpático (58-60). En contraste, en los islotes pancreáticos, la activación de

AMPK conduce a una disminución de la secreción insulínica —una respuesta fisiológica para evitar la hipoglucemia que se da por la activación mencionada de AMPK en otros tejidos—, y, desde un punto de vista terapéutico, debe considerarse dicha secreción reducida de insulina como un posible efecto indeseable de una activación generalizada de AMPK. Por otro lado, una disminución de la secreción insulínica en un individuo con hiperinsulinemia podría tener beneficios desde el punto de vista de la célula  $\beta$ , al disminuir su actividad y prevenir de este modo su potencial agotamiento. Globalmente, y teniendo en cuenta la regulación endocrina y nerviosa del grado de activación de AMPK tisular, se revela como una de las vías de futuro en el abordaje racional de la RI, una vez se hayan discriminado sus cambios en el contexto de la insulinoresistencia en humanos (61).

### **Estrés oxidativo: ¿siempre negativo?**

Bajo estrés oxidativo se agrupan una serie de cambios y adaptaciones a la producción, uso y eliminación de especies reactivas de oxígeno y de otros elementos, como las de nitrógeno. Dichas especies reactivas genéricamente presentan el carácter químico de radical libre, es decir, con la presencia de al menos un electrón desapareado en sus orbitales. La producción de dichas especies es una consecuencia innata e inexorable de la utilización de oxígeno como elemento clave en la vida aeróbica, y se da particularmente en las cadenas de transporte de equivalentes reductores situadas en la mitocondria, y por parte de una serie relativamente amplia de actividades enzimáticas

alojadas en peroxisomas y otras membranas, como las lipooxigenasas, las oxidasas dependientes de NADP (H) y el propio citocromo p450, habiéndose implicado en envejecimiento y patologías asociadas, como la diabetes (62, 63). Dado el carácter altamente reactivo de estas especies, se tiende a pensar que su producción es totalmente deletérea, concepto al que contribuye la abundante dotación de las denominadas defensas antioxidantes, basadas en la actividad de sistemas enzimáticos (como la catalasa, la superóxido dismutasa y las peroxidasas dependientes de glutatión) y no enzimáticos, como el propio glutatión, el retinol, el ácido ascórbico, el ácido úrico y el tocoferol. No es menos importante en la atribución del carácter nocivo de los radicales libres el hecho de que la ausencia, sea por causas nutricionales o genéticas de alguno de los sistemas antioxidantes, o su exceso por causas toxicológicas, contribuye a un déficit funcional marcado y a una pérdida de la homeostasis. Sin embargo, los estudios más recientes permiten modular esta generalización: i) diversos radicales libres son moléculas con un papel cuasi-hormonal, sirviendo como señalizadores *per se* (como el NO, pero no únicamente); ii) la modificación derivada de los radicales libres en biomoléculas, como los lípidos, las proteínas o el propio ADN, puede ser reconocida como señal de cambio de actividad de determinadas enzimas, contribuyendo al recambio de la molécula modificada y de otras (p. ej.: proteínas modificadas oxidativamente y actividad 20S proteasomal) o a la puesta en marcha de respuestas génicas complejas (respuestas a Nrf-2-KEAP a través de los módulos ARE); iii) la sobreexpresión de enzimas

antioxidantes o la ingesta de sustancias antioxidantes en una situación de salud no tan sólo no mejora la misma, sino que puede ser perjudicial; iv) el déficit congénito de enzimas productoras de radicales libres, como los presentes en neutrófilos, conduce a una disminución muy marcada de la expectativa de vida (64, 65). Por tanto, pese a no menoscabar el importante papel de los radicales libres en general como modificadores estructurales relevantes en la etiopatogenia de diversas condiciones patológicas y fisiológicas (en particular el envejecimiento), puede ser más veraz su apreciación como una variable fisiológica sujeta a regulación homeostática (como la glucemia, la temperatura o el pH) (66-69).

### **Antioxidantes: *ne quid nimis***

Reforzando el concepto sobre la no inocuidad de los antioxidantes en determinados contextos, se ha demostrado recientemente que la ingesta de los mismos puede interferir en la denominada *mitohormesis* o respuesta antioxidante endógena asociada a mayor sensibilidad a insulina, mediada por la inducción de genes como PGC1  $\alpha$  o  $\beta$ , PPAR  $\gamma$ , SOD1 y SOD2 y glutatión peroxidasa 1. Esta respuesta se da como reacción a los incrementos transitorios en la producción de radicales libres asociados al ejercicio físico de moderada intensidad. Así, en la actividad física extenuante se produce una elevada cantidad de radicales libres que conlleva la modificación estructural generalizada e inespecífica de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, con las consiguientes consecuencias perjudiciales. En contraste, la actividad física en moderada o baja intensidad, a través del incremento del consumo de

nutrientes y de oxígeno que conlleva, a través de la activación de oxidasas como la xantina oxidasa u otras, permite una adaptación que mejora la posterior entrada del mismo tejido frente al mismo estrés, aumentando su tolerancia. Este principio podría aprovecharse por parte de aquellas intervenciones terapéuticas que utilicen los mismos módulos de señalización, conduciendo a un incremento de la sensibilidad a la insulina de forma no ligada al incremento directo de la actividad física (67).

Para ilustrar la importancia y la complejidad del estrés oxidativo como mediador implicado en la prevención de RI, cabe acudir a estudios recientes sobre la misma en el modelo de ratón sometido a dieta hiperlipídica. Mientras que los ratones no modificados genéticamente desarrollan rasgos de RI (incremento de la glucemia basal, pérdida de la capacidad de captación de glucosa en tejido hepático y adiposo, alteraciones en las pruebas de clamp hiperinsulinémico-euglicémico), en pocas semanas, tras el cambio dietario, los ratones con un déficit en la enzima antioxidante glutatión peroxidasa muestran parámetros de IR significativamente menores, demostrando que la eliminación de la actividad glutatión peroxidasa protege frente al desarrollo de la resistencia de insulina asociada a la dieta hipercalórica. Dado que este efecto protector del déficit antioxidante se revertía completamente por la administración de N-acetil-cisteína, se concluyó que el papel señalizador de los radicales libres es importante para la prevención de la RI en este modelo. Este hecho se apoya en estudios previos, donde se ha demostrado que la generación de radicales libres, en respuesta a la pro-

pia insulina, interviene en su señalización, a través de la oxidación e inactivación reversible de una serie de tirosinas fosfatasas (PTPs) que mitigan la fosforilación de residuos de tirosina necesarios para la transducción. En el caso concreto de los ratones con déficit de glutatión peroxidasa, se demostró un aumento de la oxidación del miembro de la familia de las PTPs, la fosfatasa PTEN, que permite la finalización de las señales inducidas por la PI-3-K. Por tanto, el mantenimiento de un tono oxidativo adecuado es relevante para un mejor control insulínico (68).

### **Nuevas funciones para viejas moléculas: el papel de la función digestiva**

Al margen de los mediadores clásicos de RI, diversos descubrimientos indican que el conocimiento de la etiopatogenia de la RI está aún bastante incompleto. Así, recientemente se ha puesto de manifiesto que uno de los componentes de las secreciones digestivas, los ácidos biliares, pueden jugar un papel relevante en la generación de señales de saciedad y el control subsiguiente de la secreción y actuación de hormonas relacionadas con la insulina. Los ácidos biliares activan, dado su carácter anfipático, tanto los receptores nucleares tipo FXR en enterocitos, como un receptor recientemente identificado (el TGR5) en células L, una población celular enteroendocrina presente en la pared intestinal. Desde una perspectiva clásica, la activación en enterocitos permite la expresión de una serie de proteínas implicadas en transporte y reciclaje de los ácidos biliares, a través de la dimerización de FXR con receptores nucleares tipo RXR, aumentando la capacidad de circulación

enterohepática de las sales biliares. Por otro lado, la activación del receptor TGR5 aumenta la capacidad oxidativa de la célula y la relación entre ATP/ADP. Este cambio en el depósito energético celular, con incremento en los niveles de ATP, conduciría a la inhibición de canales de K<sup>+</sup> dependientes de ATP, llevando a despolarización y apertura de canales de calcio, de forma adicional a la activación de AMPc que también se produce como consecuencia de la activación de TGR5. Tanto el AMPc como el calcio conduce a la liberación de *glucagon-like peptide 1* (GLP-1), una incretina que aumenta la liberación de insulina por parte de las células β pancreáticas, promueve su desarrollo y puede tener una función cardio y neuroprotectora (70). Al margen de esta función, TGR5 se ha descrito en tejido adiposo pardo y en músculo, en cuyo seno la interacción con ácidos biliares permite un incremento en el gasto energético y, por tanto, disminuye la probabilidad de RI asociada a exceso de tejido adiposo o dieta hipercalórica. Así, las diversas evidencias demuestran que la señalización por TGR5 induce la liberación de GLP-1, comportando una mejora en la función pancreática y hepática, con una mayor tolerancia a glucosa en ratones con obesidad. Además, con interés terapéutico, se propone que un incremento de los niveles circulantes de GLP-1, obtenible a través de la inhibición de su metabolismo periférico (por ejemplo, disminuyendo la actividad dipeptidil-peptidasa IV) o a través de una mayor activación del TGR5, puede ser una medida útil para el abordaje de la RI (71).

El papel señalizador del intestino no se limita sólo a GLP-1 o a la emisión de otras hormonas. Uno de los campos de mayor futu-

ro es el estudio del denominado eje entero-cerebral-hepático. Así, recientemente se ha demostrado que una de las hormonas producidas por el duodeno, la colecistoquina, en su forma de 8 aminoácidos (CCK-8), a través de la estimulación de aferentes vagales mediadas por el receptor CCK-AR, y que, sin necesidad de incrementar sus niveles en circulación, conduce a una disminución de la cantidad de glucosa producida por el hígado, a través de una inhibición vagal de la gluconeogénesis. Así, en términos fisiológicos, los lípidos dietarios estimularían la producción de CCK-8 en duodeno-ileon y ésta, a través de señalización cerebral, disminuiría la producción de glucosa hepática, con el objetivo de mantener la homeostasis calórica. En caso de dietas hiperlipídicas, se produciría un fenómeno de *resistencia a la CCK*, por el cual, pese a que la producción de CCK-8 aumenta, la respuesta de inhibición de la gluconeogénesis no se mantiene (72). Estos resultados se suman a los ya conocidos sobre los efectos de hormonas peptídicas, como la insulina y la leptina (73-76), que inducen señales cerebrales que implican disminución hepática de la producción de glucosa y regulación de la homeostasis glicídica.

## RI: ¿está todo en la cabeza?

Tanto estos estudios como un conjunto de evidencias previas conducen a la formulación de la hipótesis de que el sistema nervioso, a través de la interacción con el sistema endocrino y de la inervación e integración vegetativa de los tejidos adiposos, hepático, muscular, pancreático e intestinal, tiene un papel relevante en la etiopatogenia de la RI. En primer lugar, cabe remarcar que existe una confluencia

de señales neuronales, endocrinas y metabólicas sobre el núcleo arcuato, un sistema de regulación de la ingesta y del metabolismo clave (73-76). Los diversos datos apuntan a que se puede hipotetizar la existencia de un mecanismo reflejo de control de la ingesta. En este reflejo, la integración la realizaría el núcleo arcuato. Este centro cerebral recibe aferencias desde: i) el hígado y otros órganos del sistema digestivo, indicando su ocupación por alimentos (CCK, GLP-1 —inhibiendo la ingesta—, ghrelina y el péptido YY —que activan la ingesta—), y contribuyendo a la señalización de saciedad; ii) el tejido adiposo (leptina —que atravesaría la barrera hematoencefálica mediante la forma corta del receptor expresado en endotelio—, adiponectina y otras) y el páncreas endocrino (insulina), indicando reservas de energía; iii) el torrente circulatorio, con la presencia de neuronas con capacidad de reconocimiento de la cantidad y calidad de nutrientes (aminoácidos, glucosa, lípidos) presentes en el plasma (77), y iv) córtex y otras zonas cerebrales, traduciendo estímulos cognitivos, aprendizaje, estrés y ritmos circadianos, entre otras. El núcleo arcuato, a su vez, integraría estas informaciones respondiendo mediante el sistema simpático y parasimpático, a través de la modulación de la ingesta, resultando en la regulación de la adiposidad, la glucemia y la lipemia (78, 79).

El núcleo arcuato se halla en íntima relación anatómica y funcional con otros dos centros hipotalámicos, del hipotálamo lateral y medial. Por una parte, el hipotálamo lateral secreta la hormona MCH (*melanin-concentrating hormone*) y orexina, cuya liberación estimula la ingesta, siendo conocida esta localización como el

centro de la ingesta. Desde los años 50 del siglo pasado, se sabe que su lesión provoca afagia, adipsia y consiguiente pérdida de peso. Por otra parte, los núcleos del hipotálamo medial, forman parte del centro de la saciedad, dado que su estimulación provoca pérdida del apetito. A ambos centros llegan las terminaciones nerviosas procedentes de neuronas del núcleo arcuato. Entre estas neuronas cabe destacar las que producen neuropéptido Y (NPY), proopiomelanocortina (POMC), péptido relacionado con agouti (AgRP) y transcrito regulado por cocaína y anfetamina (CART). Tanto el NPY como AgRP estimulan el centro de la ingesta, mientras que derivados de la proopiomelanocortina y el CART estimulan el centro de la saciedad, a través de la interacción con su receptor, el MC4-R (80, 81). De hecho, en relación a RI, se puede establecer que existe una regulación por parte de insulina y leptina en dos de los tipos celulares más relevantes en este centro. Así, la insulina, a través de la unión a su receptor en neuronas POMC y AgRP estimula la vía de autofosforilación y su señalización (descrita en la parte inicial de este capítulo). Cabe mencionar la participación de PTEN, atenuando la señalización. Dicha enzima, ya ha sido mencionada como diana de oxidación reversible y, por tanto, al margen de actuar en músculo esquelético, puede ser una diana de intervención a nivel neuronal. En cualquier caso, la activación de AKT subsiguiente a la señalización insulínica comporta su entrada en núcleo donde fosforila a FOXO1, permitiendo su desplazamiento a localización citosólica y su inactivación funcional. Dado que FOXO1 en neuronas POMC inhibe su expresión, a través de competir

con STAT3 fosforilado en el promotor de POMC, la acción insulínica comporta un aumento en la cantidad de POMC liberado, aumentando la sensación de saciedad. En contraste, en neuronas productoras de AgRP FOXO1 aumenta la expresión de AgRP, con lo que la exclusión nuclear de FOXO1 disminuye la cantidad de AgRP producido, inhibiendo la ingesta (82, 83). El caso de leptina, al estimular una vía de señalización diferente, depende de la activación de vías JAK-STAT, permite la dimerización de STAT3 y su fosforilación, desplazándose hacia el núcleo, donde aumenta la transcripción de POMC y disminuye la de AgRP. No obstante, los JAK-STAT dependientes de leptina pueden aumentar los niveles de inositol-trifosfato, mejorando la señalización insulínica. De modo relevante, parece aceptado que igual que existe una resistencia a la insulina a nivel somático, pueden existir los mismos fenómenos en estas neuronas, permitiendo una insensibilización y la no respuesta a los altos niveles de leptina e insulina que caracterizan el estado de RI. Adicionalmente a estas señales se cuenta la participación de neurotransmisores monoaminérgicos, como: i) noradrenalina, que incrementa la ingesta, a través esencialmente de los receptores  $\alpha$ -2 (en contraste con los  $\alpha$ -1 o los  $\beta$ -2, que disminuyen la ingesta); ii) dopamina, que administrada en el hipotálamo lateral, inhibe su actuación, mientras que liberada en núcleo *accumbens* incrementa la ingesta, y iii) la serotonina, cuyos efectos netos dependen de la localización anatómica de su administración y el tipo de receptor implicado.

Por último, y explicando hechos como la mayor incidencia de RI en individuos con

horarios laborales cambiantes, se ha descrito la influencia de los sistemas de control circadiano cerebral en el desarrollo de RI en modelos murinos. Así, los ratones con una mutación en el gen CLOCK, un factor de transcripción clave en el reloj molecular circadiano de las neuronas marcapaso del núcleo supraquiasmático hipotalámico, tienen una menor sensibilidad a la influencia lumínica sobre el ritmo de ingesta, resultando hiperfágicos y obesos, con desarrollo de síndrome metabólico con hiperleptinemia, hiperlipidemia, hepatoesteatosis e hiperglicemia. La expresión de RNA para péptidos hipotalámicos de regulación de la ingesta, como CART, orexina y ghrelina, disminuía significativamente en estos ratones, sugiriendo que el mantenimiento de un ritmo vigilia-sueño constante puede ser un factor relevante para la prevención de la RI en mamíferos (84-87).

## Conclusiones

La resistencia a insulina es una respuesta fisiológica frente a necesidades de adaptación metabólica. Sin embargo, su activación continuada se asocia a defectos de señalización celular desencadenados/modulados por: i) acumulación de tejido adiposo y cambios fenotípicos del mismo, asociados a hipoxia e inflamación; ii) alteraciones metabólicas en bioenergética y estrés oxidativo, sin necesariamente aumento del mismo, y iii) cambios en la regulación de la ingesta y gasto calórico en sistema nervioso central. Por tanto, el abordaje etiopatogénico de esta condición debe tener en cuenta la diversidad de factores implicados, con el fin de permitir una recuperación de la homeostasis de la señalización insulínica de modo fisiológico.

## Bibliografía

1. Fauci AS. Harrison, principios de medicina interna. 2008: 344.
2. Mostyn A, Symonds ME. Early programming of adipose tissue function: a large-animal perspective. *Proc Nutr Soc.* 2009; 68(4):393-400.
3. Boden G. Pathogenesis of type 2 diabetes. Insulin resistance. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2001; 30(4):801-15, v.
4. Hay WW. Early postnatal nutritional requirements of the very preterm infant based on a presentation at the NICHD-AAP workshop on research in neonatology. *J Perinatol.* 2006; 26 (suppl. 2):S13-8.
5. Hay WW, Jr. Placental-fetal glucose exchange and fetal glucose metabolism. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2006; 117:321-39; discussion 339-40.
6. McIntyre HD, Zeck W, Russell A. Placental growth hormone, fetal growth and the IGF axis in normal and diabetic pregnancy. *Curr Diabetes Rev.* 2009; 5(3):185-9.
7. Muhlhausler B, Smith SR. Early-life origins of metabolic dysfunction: role of the adipocyte. *Trends Endocrinol Metab.* 2009; 20(2):51-7.
8. Muhlhausler BS, Adam CL, McMillen IC. Maternal nutrition and the programming of obesity: The brain. *Organogenesis.* 2008; 4(3):144-52.
9. Kaaja RJ. Metabolic syndrome and the menopause. *Menopause Int.* 2008; 14(1):21-5.
10. Rennie MJ. Anabolic resistance in critically ill patients. *Crit Care Med.* 2009; 37(10 Suppl.):S398-9.
11. Steinberg GR. Inflammation in obesity is the common link between defects in fatty acid metabolism and insulin resistance. *Cell Cycle.* 2007; 6(8):888-94.
12. McMillen IC, Adam CL, Muhlhausler BS. Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. *J Physiol.* 2005; 565(Pt. 1):9-17.
13. Stofkova A. Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. *Endocr Regul.* 2009; 43(4):157-68.
14. Scacchi M, Ida Pincelli A, Cavagnini F. Nutritional status in the neuroendocrine control of growth hormone secretion: the model of anorexia nervosa. *Front Neuroendocrinol.* 2003; 24(3):200-24.
15. Kasuga M. Insulin resistance and pancreatic beta cell failure. *J Clin Invest.* 2006; 116(7):1.756-60.
16. Pascual-Leone Pascual AM, Ruiz Amil M. Visión endocrina actual de las interconexiones celulares: la familia de la insulina. 2001; 85.
17. Korenman SG. Atlas of clinical endocrinology. Philadelphia: Current Medicine. 1999; 2.000.
18. DeFronzo RA. Current issues in the treatment of type 2 diabetes. Overview of newer agents: where treatment is going. *Am J Med.* 2010; 123(3 Suppl.):S38-48.
19. Gade W, Gade J. Obesity and metabolic syndrome overview. *Clin Lab Sci.* 2010; 23(1):37-8.
20. Gade W, Schmit J, Collins M, Gade J. Beyond obesity: the diagnosis and pathophysiology of metabolic syndrome. *Clin Lab Sci.* 2010; 23(1):51-61; quiz 62-5.
21. Gual P, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie.* 2005; 87(1):99-109.
22. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature.* 2002; 420(6913):333-6.
23. Chiang SH, Bazuine M, Lumeng CN, Geletka LM, Mowers J, White NM, et al. The protein kinase IKKepsilon regulates energy balance in obese mice. *Cell.* 2009; 138(5):961-75.
24. Farrell GC. Signalling links in the liver: knitting SOCS with fat and inflammation. *J Hepatol.* 2005; 43(1):193-6.
25. Ueki K, Kondo T, Tseng YH, Kahn CR. Central role of suppressors of cytokine signa-

- ling proteins in hepatic steatosis, insulin resistance, and the metabolic syndrome in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101(28):10.422-7.
26. Copps KD, Hancer NJ, Opare-Ado L, Qiu W, Walsh C, White MF. Irs1 serine 307 promotes insulin sensitivity in mice. *Cell Metab*. 2010; 11(1):84-92.
27. Brachmann SM, Ueki K, Engelman JA, Kahn RC, Cantley LC. Phosphoinositide 3-kinase catalytic subunit deletion and regulatory subunit deletion have opposite effects on insulin sensitivity in mice. *Mol Cell Biol*. 2005; 25(5):1.596-607.
28. Cornier MA, Bessesen DH, Gurevich I, Leitner JW, Draznin B. Nutritional upregulation of p85alpha expression is an early molecular manifestation of insulin resistance. *Diabetologia*. 2006; 49(4):748-54.
29. Sopasakis VR, Liu P, Suzuki R, Kondo T, Winnay J, Tran TT, et al. Specific roles of the p110alpha isoform of phosphatidylinositol 3-kinase in hepatic insulin signaling and metabolic regulation. *Cell Metab*. 2010; 11(3):220-30.
30. Muscelli E, Camastra S, Catalano C, Galvan AQ, Ciociaro D, Baldi S, et al. Metabolic and cardiovascular assessment in moderate obesity: effect of weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82(9):2.937-43.
31. Lago F, Diéguez C, Gómez-Reino J, Gualillo O. Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2007; 3(12):716-24.
32. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000; 106(2):171-6.
33. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006; 116(7):1.793-801.
34. Copps KD, White MF. Breathing room: the (un)natural history of adipose microhypoxia and insulin resistance. *Diabetes*. 2009; 58(1):26-7.
35. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc*. 2001; 60(3):349-56.
36. Muhlhauser BS. Nutritional models of type 2 diabetes mellitus. *Methods Mol Biol*. 2009; 560:19-36.
37. Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest*. 2008; 118(9):2.992-3.002.
38. Muoio DM, Newgard CB. Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008; 9(3):193-205.
39. Dube JJ, Amati F, Stefanovic-Racic M, Toledo FG, Sauers SE, Goodpaster BH. Exercise-induced alterations in intramyocellular lipids and insulin resistance: the athlete's paradox revisited. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008; 294(5):E882-8.
40. Szczepaniak LS, Dobbins RL, Metzger GJ, Sartoni-D'Ambrosia G, Arbique D, Vongpatanasin W, et al. Myocardial triglycerides and systolic function in humans: in vivo evaluation by localized proton spectroscopy and cardiac imaging. *Magn Reson Med*. 2003; 49(3):417-23.
41. Sharma S, Adrogué JV, Golfman L, Uray I, Lemm J, Youker K, et al. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles the lipotoxic rat heart. *FASEB J*. 2004; 18(14):1.692-700.
42. Maedler K, Oberholzer J, Bucher P, Spinass GA, Donath MY. Monounsaturated fatty acids prevent the deleterious effects of palmitate and high glucose on human pancreatic beta-cell turnover and function. *Diabetes*. 2003; 52(3):726-33.
43. De Vries JE, Vork MM, Roemen TH, de Jong YF, Cleutjens JP, van der Vusse GJ, et al. Saturated but not mono-unsaturated fatty acids induce apoptotic cell death in neonatal rat ventricular myocytes. *J Lipid Res*. 1997; 38(7):1.384-94.
44. Listenberger LL, Ory DS, Schaffer JE. Palmitate-induced apoptosis can occur through a ceramide-independent pathway. *J Biol Chem*. 2001; 276(18):14.890-5.
45. Lee Y, Naseem RH, Park BH, Garry DJ, Richardson JA, Schaffer JE, et al. Alpha-lipoic

- acid prevents lipotoxic cardiomyopathy in acyl CoA-synthase transgenic mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006; 344(1):446-52.
46. Ye G, Metreveli NS, Donthi RV, Xia S, Xu M, Carlson EC, et al. Catalase protects cardiomyocyte function in models of type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes.* 2004; 53(5):1.336-43.
47. Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD (P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes.* 2000; 49(11):1.939-45.
48. Listenberger LL, Han X, Lewis SE, Cases S, Farese RV, Jr, Ory DS, et al. Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100(6):3.077-82.
49. Borradaile NM, Han X, Harp JD, Gale SE, Ory DS, Schaffer JE. Disruption of endoplasmic reticulum structure and integrity in lipotoxic cell death. *J Lipid Res.* 2006; 47(12):2.726-37.
50. Moffitt JH, Fielding BA, Evershed R, Berstan R, Currie JM, Clark A. Adverse physicochemical properties of tripalmitin in beta cells lead to morphological changes and lipotoxicity in vitro. *Diabetologia.* 2005; 48(9):1.819-29.
51. Song B, Scheuner D, Ron D, Pennathur S, Kaufman RJ. Chop deletion reduces oxidative stress, improves beta cell function, and promotes cell survival in multiple mouse models of diabetes. *J Clin Invest.* 2008; 118(10):3.378-89.
52. Liu L, Zhang Y, Chen N, Shi X, Tsang B, Yu YH. Upregulation of myocellular DGAT1 augments triglyceride synthesis in skeletal muscle and protects against fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest.* 2007; 117(6):1.679-89.
53. Cacicedo JM, Yagihashi N, Keaney JF, Jr, Ruderman NB, Ido Y. AMPK inhibits fatty acid-induced increases in NF-kappaB transactivation in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 324(4):1.204-9.
54. Koves TR, Ussher JR, Noland RC, Slentz D, Mosedale M, Ilkayeva O, et al. Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. *Cell Metab.* 2008; 7(1):45-56.
55. Brookheart RT, Michel CI, Schaffer JE. As a matter of fat. *Cell Metab.* 2009; 10(1):9-12.
56. Cao H, Gerhold K, Mayers JR, Wiest MM, Watkins SM, Hotamisligil GS. Identification of a lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. *Cell.* 2008; 134(6):933-44.
57. Stefan N, Kantartzis K, Celebi N, Staiger H, Machann J, Schick F, et al. Circulating palmitoleate strongly and independently predicts insulin sensitivity in humans. *Diabetes Care.* 2010; 33(2):405-7.
58. Lim CT, Kola B, Korbonits M. AMPK as a mediator of hormonal signalling. *J Mol Endocrinol.* 2010; 44(2):87-97.
59. Steinberg GR, Kemp BE. AMPK in Health and Disease. *Physiol Rev.* 2009; 89(3):1.025-78.
60. Long YC, Zierath JR. AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. *J Clin Invest.* 2006; 116(7):1.776-83.
61. Zhang BB, Zhou G, Li C. AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab.* 2009; 9(5):407-16.
62. Negre-Salvayre A, Salvayre R, Auge N, Pamplona R, Portero-Otin M. Hyperglycemia and glycation in diabetic complications. *Antioxid Redox Signal.* 2009; 11(12):3.071-109.
63. Sanz A, Pamplona R, Barja G. Is the mitochondrial free radical theory of aging intact? *Antioxid Redox Signal.* 2006; 8(3-4):582-99.
64. Maher J, Yamamoto M. The rise of antioxidant signaling--the evolution and hormetic actions of Nrf2. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010; 244(1):4-15.
65. Martinon F. Signaling by ROS drives inflammasome activation. *Eur J Immunol.* 2010; 40(3):616-9.
66. Long EK, Picklo MJ S. Trans-4-hydroxy-2-hexenal, a product of n-3 fatty acid peroxidation

- tion: make some room HNE. *Free Radic Biol Med.* 2010; 49(1):1-8.
67. Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Kloting N, Birringer M, Kiehntopf M, et al. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106(21):8.665-70.
68. Loh K, Deng H, Fukushima A, Cai X, Boivin B, Galic S, et al. Reactive oxygen species enhance insulin sensitivity. *Cell Metab.* 2009; 10(4):260-72.
69. Hu R, Saw CL, Yu R, Kong AN. Regulation of Nrf2 Signaling for Cancer Chemoprevention: Antioxidant Coupled with Anti-inflammatory. *Antioxid Redox Signal.* 2010.
70. Asmar M, Holst JJ. Glucagon-like peptide 1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide: new advances. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2010; 17(1):57-62.
71. Thomas C, Gioiello A, Noriega L, Strehle A, Oury J, Rizzo G, et al. TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis. *Cell Metab.* 2009; 10(3):167-77.
72. Cheung GW, Kokorovic A, Lam CK, Chari M, Lam TK. Intestinal cholecystokinin controls glucose production through a neuronal network. *Cell Metab.* 2009; 10(2):99-109.
73. Caspi L, Wang PY, Lam TK. A balance of lipid-sensing mechanisms in the brain and liver. *Cell Metab.* 2007; 6(2):99-104.
74. Kievit P, Howard JK, Badman MK, Balthasar N, Coppari R, Mori H, et al. Enhanced leptin sensitivity and improved glucose homeostasis in mice lacking suppressor of cytokine signaling-3 in POMC-expressing cells. *Cell Metab.* 2006; 4(2):123-32.
75. Obici S, Zhang BB, Karkanias G, Rossetti L. Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production. *Nat Med.* 2002; 8(12):1.376-82.
76. Schwartz MW, Porte D, Jr. Diabetes, obesity, and the brain. *Science.* 2005; 307(5.708):375-9.
77. Rodríguez EM, Blázquez JL, Guerra M. The design of barriers in the hypothalamus allows the median eminence and the arcuate nucleus to enjoy private milieus: the former opens to the portal blood and the latter to the cerebrospinal fluid. *Peptides.* 2010; 31(4):757-76.
78. Suzuki K, Simpson KA, Minnion JS, Shillito JC, Bloom SR. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. *Endocr J.* 2010.
79. Grill HJ. Leptin and the systems neuroscience of meal size control. *Front Neuroendocrinol.* 2010; 31(1):61-78.
80. Kageyama H, Takenoya F, Shiba K, Shioda S. Neuronal circuits involving ghrelin in the hypothalamus-mediated regulation of feeding. *Neuropeptides.* 2010; 44(2):133-8.
81. Mountjoy KG. Functions for pro-opiomelanocortin-derived peptides in obesity and diabetes. *Biochem J.* 2010; 428(3):305-24.
82. Belgardt BF, Okamura T, Bruning JC. Hormone and glucose signalling in POMC and AgRP neurons. *J Physiol.* 2009; 587(Pt. 22):5.305-14.
83. Hill JW, Elmquist JK, Elias CF. Hypothalamic pathways linking energy balance and reproduction. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008; 294(5):E827-32.
84. Begriche K, Sutton GM, Fang J, Butler AA. The role of melanocortin neuronal pathways in circadian biology: a new homeostatic output involving melanocortin-3 receptors? *Obes Rev.* 2009; 10 (suppl. 2):14-24.
85. Garaulet M, Lee YC, Shen J, Parnell LD, Arnett DK, Tsai MY, et al. CLOCK genetic variation and metabolic syndrome risk: modulation by monounsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 2009; 90(6):1.466-75.
86. Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, et al. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science.* 2005; 308(5.724):1.043-5.
87. Maury E, Ramsey KM, Bass J. Circadian rhythms and metabolic syndrome: from experimental genetics to human disease. *Circ Res.* 2010; 106(3):447-62.



# JORNADA

SOBRE

INFLAMACIÓN Y  
PATOGENICIDAD.

LA RESPUESTA INFLAMATORIA  
EN PATOLOGÍAS  
CARDIOVASCULARES Y EN EL  
ENVEJECIMIENTO

7 DE ABRIL DE 2010



# La inflamación como causa de patogenicidad en enfermedades cardiovasculares

**Lisardo Boscá Gomar.** Instituto de Investigaciones Biomédicas “Alberto Sols” (Centro Mixto CSIC-UAM).

## Resumen

Los recientes progresos en terapia cardiovascular apenas han logrado disminuir el impacto de esta enfermedad y la patología coronaria sigue siendo una de las principales causas de muerte y de incapacidad, con predicciones epidemiológicas que apuntan a que su morbimortalidad superará a la del cáncer y las enfermedades infecciosas en los próximos años en todos los países del mundo. Este hecho se asocia con el aumento de la prevalencia de la aterosclerosis, proceso lento y silencioso caracterizado por el engrosamiento de las paredes arteriales que conlleva la formación de la placa aterosclerótica, desempeñando un papel fundamental en la misma el depósito de colesterol, la inflamación, la generación y aumento de la matriz extracelular y la trombosis. Su principal manifestación es el infarto agudo de miocardio debido a la ruptura de la placa aterosclerótica inestable, produciendo una oclusión trombótica de la arteria coronaria, y haciendo necesaria la práctica de una revascularización de urgencia.

Dentro de los avances realizados en el estudio de la aterogénesis en el campo de la enfermedad cardiovascular (ECV), los receptores nucleares han emergido como protectores primarios frente a los procesos inflamatorios vasculares, así como

reguladores del metabolismo lipídico asociado a las patologías ateroscleróticas (p. ej.: el ictus o trombosis cerebral, la colitis isquémica y la isquemia arterial de los miembros inferiores —claudicación intermitente—). Los receptores nucleares constituyen una superfamilia de factores de transcripción dependientes de ligando que regulan múltiples aspectos del desarrollo, la homeostasis celular, la reproducción y la respuesta inmune. Aunque el receptor de glucocorticoides es el mejor conocido dentro de esta familia, en los últimos años se han identificado nuevos receptores (conocidos como receptores huérfanos/adoptados) como importantes moduladores tanto del metabolismo lipídico como de la respuesta inflamatoria. Muchos de estos receptores están regulados por ácidos biliares, ácidos grasos oxidados y por derivados del colesterol presentes en las lipoproteínas circulantes, siendo estos últimos captados por los macrófagos, donde regulan negativamente la respuesta inflamatoria y favorecen su biotransformación y disponibilidad. Dentro de esta superfamilia de receptores nucleares destaca el papel de los LXRs (*Liver X Receptors*) y de los PPARs (*Peroxisome Proliferator Activated Receptors*) en la patología cardiovascular. La capacidad de los PPARs y LXRs de integrar señalización metabólica e inflamatoria

hace de ellos dianas particularmente atractivas en el tratamiento no sólo de enfermedades metabólicas, sino de patologías que combinan ambas facetas: metabolismo e inflamación, como es el caso de la aterosclerosis. En este capítulo se revisarán las bases moleculares que permiten comprender el papel de la respuesta inflamatoria en el desarrollo de las patologías cardiovasculares a través de su contribución a la aterogénesis y a la disfunción endotelial.

### La inflamación como causa inicial de enfermedad

Durante los últimos 30 años se han producido avances importantes en el conocimiento de los aspectos moleculares, genéticos, ambientales y terapéuticos de la mayoría de las enfermedades. Este es también el caso de la ECV, en la que si bien desde antiguo resultó evidente la participación de sustancias de naturaleza lipídica en la generación de las placas de ateroma, no estuvo claro su mecanismo etiopatogénico

hasta bien entrada la década de 1970 en que Rusell Ross formula una primera hipótesis inflamatoria como causa del daño vascular (Ross y Agius, 1992; Ross *et al.*, 1977). El punto final de la ECV es la aparición de una placa ateromatosa (de *athero*= blando, y *skleros*= duro) que puede incluso calcificarse, en la que se encuentran depósitos cristalizados de colesterol, matriz extracelular y elementos fibrosos debidos a la hiperproliferación de la musculatura vascular lisa y su infiltración por parte de macrófagos y diversas poblaciones linfocitarias (Ball *et al.*, 1995).

Sin embargo, a pesar de este aumento en el conocimiento de las bases celulares y moleculares de la patología, la epidemiología marca con claridad cómo para muchas enfermedades altamente prevalentes (cáncer, enfermedades pulmonares, cardiovasculares, entero-hepáticas, renales, ictus, etc.), el progreso realizado no se ha traducido en un cambio en la tendencia de las curvas de morbilidad tanto en EE.UU. como en Europa (figura 1). Esta observa-

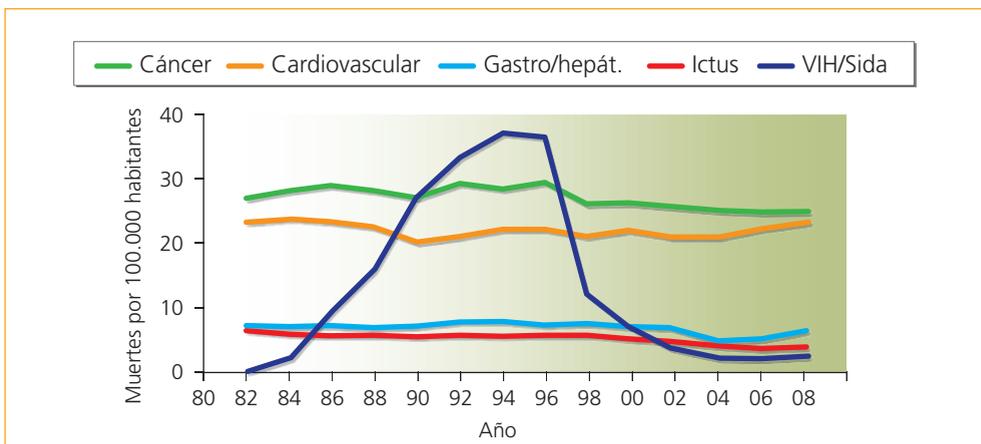


Figura 1. Líneas de tendencia de morbilidad en USA en población de 25-44 años. La figura muestra la evolución para estas patologías, en muchos casos de tipo monogénico, para la población de Estados Unidos, siendo similares las tendencias en Europa. Fuente: CDC (Centers for Diseases Control and Prevention, USA), datos acumulados de 2008.

ción un tanto sorprendente contrasta con los avances en la fisiopatología mencionados anteriormente y obliga a considerar la existencia de un déficit en la transferencia del conocimiento básico a la clínica; es más, abre el camino a valorar mecanismos etiopatogénicos distintos a los considerados tradicionalmente, uno de ellos es el componente inflamatorio como inicio de estas patologías (Capewell y Graham, 2010; Chawla, 2010; Grivennikov *et al.*, 2010; Lin y Karin, 2007; Mantovani, 2010; Nahrendorf *et al.*, 2010; Nathan, 2002; Nathan y Ding, 2010; Terzic *et al.*, 2010). Este nuevo enfoque es el que algunos autores denominan "inflamación como causa primaria de patogenicidad", incluyendo también las patologías asociadas a la resolución de la inflamación (sobre todo patologías fibróticas), así como la patogenicidad asociada a la denominada "no-resolución de la inflamación" (Nathan, 2002; Nathan y Ding, 2010; Terzic *et al.*, 2010). Hay que resaltar que los datos del gráfico de la figura 1 corresponden a un tramo de edad en el que se manifiestan especialmente patologías que tienen un alto componente genético-ambiental; sin embargo, no es menos cierto que si se examina la etapa siguiente al periodo señalado (por encima de los 50 años), la medicina actual ha permitido prolongar la vida media en patologías como el cáncer y la enfermedad cardiovascular aunque constatándose la existencia de un mayor número de incidencias que a su vez se presentan con más gravedad y de forma mucho más recurrente (Mathers y Loncar, 2006; Mendelsohn y Karas, 2005).

Frente a estas curvas de tendencia de las principales patologías, merece la pena destacar la incidencia de la muerte por SIDA que, tras un aumento exponencial

hasta mediados de la década de los 90, presentó un rápido cambio de tendencia debido sobre todo a dos factores: la introducción de una potente farmacología antirretroviral, resultado de la transferencia a la terapéutica de los avances en el conocimiento sobre los mecanismos de replicación viral, capaz de reprimir la viremia, y a un cambio en la conducta social que frenó la expansión de la infección. Por eso, se ha pensado que un enfoque en este sentido de la patología cardiovascular permitiría reducir la tendencia de estas curvas, iniciando un cambio en la pendiente de las mismas que reflejaría, por un lado, un transvase de conocimiento hacia el paciente, y por otro lado, una mejora en el estilo de vida (dieta, ejercicio, hábitos más saludables, etc.) contribuyendo ambos factores en el perfil de las curvas (Hegele, 2009; Johansen y Hegele, 2009; Rosamond *et al.*, 2008; Weiss, 2001). Uno de los cambios conceptuales que se ha producido en este campo ha sido la consideración de la reacción inflamatoria como causa inicial de patogenicidad, responsable de promover el desarrollo de muchas de estas patologías en cuyas bases figuran los factores de riesgo antes mencionados, desde las causas genéticas a las ambientales (Hegele, 2009; Swirski *et al.*, 2009; Teslovich *et al.*, 2010). Hoy en día se considera que la mayoría de las patologías relevantes se inician mediante el desarrollo de una respuesta inflamatoria cuya evolución posterior viene muy condicionada por la predisposición genética de los individuos (tabla 1). Un reciente metaanálisis de identificación de genes de predisposición al desarrollo de la aterosclerosis a nivel genómico, que inclu-

**Tabla 1. La inflamación como causa de patogenicidad.**

Como causa inicial	
• Alzheimer	• Esclerosis múltiple
• Anafilaxias	• Osteoartritis
• Asma	• Psoriasis
• Dermatitis atópica	• Artritis reumatoide
• <b>Aterosclerosis</b>	• Lupus sistémico
• Enfermedad de Crohn	• Diabetes tipo I
• <b>Daño por isquemia-reperfusión (oclusión embólica/infarto de miocardio)</b>	• Rechazo primario
	• Cáncer?
Como evento post-inflamatorio (fibrosis)	
	• Fibrosis pulmonar
	• Rechazo de trasplante
	• Fibrosis pulmonar idiopática
	• Cirrosis hepática

Breve enumeración de patologías en cuyo inicio se identifica un proceso inflamatorio, o cuya resolución de la inflamación conduce a la aparición de patología. En rojo se señalan las relevantes en la ECV.

ye 46 cohortes y más de 100.000 individuos, ha puesto de manifiesto la existencia de alrededor de 95 genes con variantes alélicas o posicionales dentro de los cromosomas, que están implicados en la regulación de los niveles lipídicos en el plasma (Teslovich *et al.*, 2010). Lo más sorprendente de este análisis sin precedentes por su calidad muestral, es que en 59 de estos genes se desconocía su implicación en la homeostasis vascular del colesterol y de los triglicéridos. Esta línea de trabajo, que además ha permitido integrar datos previos sobre polimorfismos en genes de susceptibilidad a aterosclerosis (Musunuru *et al.*, 2010), muestra con claridad el aspecto aditivo de pequeñas alteraciones en genes que regulan, por ejemplo, el nivel de expresi

sión de las HDL (Galnt2, una enzima de la familia de las N-acetil-galactosamina transferasas), y que acaban conformando el fenotipo aterogénico al interactuar con factores ambientales y dietéticos, típicos de una inflamación de perfil bajo, pero persistente (Musunuru *et al.*, 2010; Waldo *et al.*, 2008). Además de esta consideración de la inflamación como *primum movens* de la enfermedad, en el caso de las fibrosis es la etapa de resolución de la inflamación la que no se realiza correctamente debido a una remodelación inapropiada de la matriz extracelular, lo que ocasiona la aparición de alteraciones en las propiedades físicas y dinámicas de la misma. Esto es especialmente importante en tejidos como el pulmón, hígado, tejido muscular liso de

los vasos y corazón y forma parte de las dificultades de endo-regeneración incluso en aquellos casos en los que los órganos disponen de una importante capacidad regenerativa, como es el hígado.

## Genética e inflamación en patología cardiovascular

El conocimiento del papel de los factores genéticos sobre la susceptibilidad a la enfermedad cardiovascular sigue siendo un campo difícil aunque paradigmático y cuyo rápido desarrollo es previsible debido a los avances en el campo de la secuenciación masiva de genomas (Hegele, 2009; Musunuru *et al.*, 2010; Teslovich *et al.*, 2010). Esta complejidad es debida sobre todo a los polimorfismos genéticos y su heterogeneidad; a variaciones en la "penetrancia génica" y a la importancia de la interacción genoma-ambiente. De hecho, aunque un reducido número de enfermedades son causadas por mutaciones con alta penetrancia en un único gen, las patologías más frecuentes resultan de la interacción entre múltiples variantes de genes débilmente penetrantes y factores ambientales, incluido el estilo de vida; un buen ejemplo de esta complejidad lo constituye la diabetes, donde existe un amplio abanico de "diabetogenes" que a través de pequeños cambios hormonales, de señalización y metabólicos, acaban estableciendo un cuadro patológico con unas características fenotípicas bien definidas.

Sólo un reducido número de enfermedades cardiovasculares son debidas a mutaciones altamente penetrantes en un único gen, entre las que cabe destacar las canalopatías, la hipercolesterolemia fami-

liar, las cardiomiopatías y las arritmias cardíacas. Sin embargo, la susceptibilidad a la enfermedad cardiovascular en la mayoría de la población se asocia con variantes genéticas comunes, débilmente penetrantes, que interaccionan con factores ambientales. Diversos estudios epidemiológicos sugieren que las variantes individuales modulan la mitad del riesgo cardiovascular, potenciando o protegiendo, lo que en determinados casos de susceptibilidad fácil de determinar hace que merezcan un detallado estudio genético debido a su relevancia clínica (Hansson y Libby, 2006; Hansson *et al.*, 2002; Johansen y Hegele, 2009). Por otro lado, existe un amplio número de estudios en cohortes que relacionan factores genéticos con ambientales; baste citar las asociaciones del genotipo ApoE4 con el tabaquismo, hipertensión y dieta, o mutaciones en el receptor de las LDL/hipercolesterolemia, también con la dieta (Teslovich *et al.*, 2010). En la tabla 2 se resumen algunos de los sistemas de regulación de la homeostasis vascular y genes candidatos relevantes en patología cardiovascular.

Uno de los problemas que afronta la detección precoz de la ECV es la falta de biomarcadores reproducibles, sensibles y fácilmente accesibles para poder evaluar el denominado "riesgo cardiovascular". Existen diversas escalas para evaluar este riesgo atendiendo tanto a factores objetivos (género, edad, predisposición genética, etc.) como ambientales (dieta, hábitos como sedentarismo, tabaquismo, hipertensión, etc.). Pese a ello, los marcadores biológicos han demostrado ser bastante esquivos y la determinación de factores pro-inflamatorios, como TNF- $\alpha$ , IL-1 o IL-6, quimioquinas, proteína C reactiva, etc.,

**Tabla 2. Factores genéticos, ambientales y dietéticos que participan en la elevación de los lípidos plasmáticos y contribuyen al desarrollo de la aterogénesis.**

Lípidos, lipoproteínas y colesterol	Hipertensión: renina-angiotensina, canales y receptores
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Apolipoproteínas (Apo) A, B, CII y E</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kalicreína/Bradiquinina</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteína de unión de ácidos grasos (FABP3)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• NO sintasa endotelial (NOS3)/PKG</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteínas de unión de esteroides (CETP, SRBP)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Endotelina 1 y su receptor</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hidroximetilglutaril CoA reductasa (HMGCR)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aldosterona sintasa y receptor de mineralocorticoides</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lipoproteína lipasa (LPL, PTLP)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Epithelial Na channel (Liddle's locus)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Receptor de LDL y VLDL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antiportador Na/H (NHE3)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Receptores "limpiadores" (scavenger; CD36, SR-BI)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Canales de Na</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Paraoxonasa (PON1,2,3)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Na/K-ATPasa</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PPAR<math>\gamma</math>, LXR<math>\alpha</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Receptores adrenérgicos</li> </ul>
FACTORES TROMBOGÉNICOS Y FIBROGÉNICOS	OBESIDAD, DIABETES Y RESISTENCIA A INSULINA
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antitrombina III</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Leptina y su receptor</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Factor V y VII</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteína desacoplante UCP2</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• TGF-<math>\beta</math>: receptores y genes diana (TR<math>\beta</math>, PAI-1)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Señalización <math>\beta</math>-adrenérgica</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fibrinógeno</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TNF-<math>\alpha</math></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDGF</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Receptor de glucagón e insulina</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Receptor de glicoproteínas en plaquetas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Receptor de melanocortina</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Trombomodulina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucoquinasa, enzimas del glucógeno</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tromboxanos, leucotrienos y sus receptores (TBXA2R; LTBs)</li> </ul>	

Se han agrupado en familias metabólicas, funcionales y patológicas, señalando dianas cuya contribución a la ECV está suficientemente acreditada.

han contribuido escasamente a la determinación del nivel de riesgo. Sólo recientemente, mediante el acceso a tecnologías de secuenciación masiva y lo que se denomina "metaanálisis" de los datos, se han realizado progresos significativos en el campo de la genética. Sin embargo, estos mismos datos de metaanálisis sugieren que el tema es extraordinariamente complejo debido a las influencias ambien-

tales. Sólo en aquellos casos en los que una o más de las múltiples mutaciones que afectan a los genes de las lipoproteínas o a la síntesis/transporte de triglicéridos tienen un acusado efecto fenotípico, se pueden realizar predicciones basadas en estos estudios genéticos (p. ej.: lipochips de uso comercial para la detección de mutaciones en el receptor de las LDL y proteínas relacionadas). Por otro lado, la

detección de la formación y características de los ateromas mediante técnicas eco-gráficas o de imagen de alta resolución, utilizando sondas que interactúan con el ateroma, ofrecen unas perspectivas significativas para el diagnóstico (Nahrendorf *et al.*, 2008 y 2010).

En cuanto a la inflamación, se trata de un concepto intuitivo en el que hay que matizar los aspectos moleculares y celulares para tener una idea precisa. Baste decir que su regulación presenta particularidades que dependen de la especie animal, y dentro de una especie, incluso de los tejidos implicados (Nathan, 2002). En la tabla 3 se resumen brevemente las causas más habituales de la reacción inflamatoria, incluyendo las células que participan y los principales mediadores de

inflamación, responsables últimos del proceso. Como detalle importante de la inflamación en el sistema cardiovascular, hay que señalar el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (anión superóxido y agua oxigenada) y en mucho menor grado la de óxido nítrico (NO) en primates, mientras que en el resto de mamíferos la vía del NO es especialmente relevante, lo que conlleva a la formación de peroxinitrito al reaccionar el anión superóxido con el NO. Este peroxinitrito es una molécula con un alto poder oxidante sobre proteínas, lípidos y ácidos nucleicos de las células en que se produce, contribuyendo además junto con el anión superóxido a la oxidación de las lipoproteínas circulantes. También la diferenciación de los linfocitos T en Th1 *vs.*

**Tabla 3. La reacción inflamatoria: principales causas de inicio, células involucradas y mediadores de inflamación.**

Causas	{	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bacterias y patógenos</li> <li>Tumores</li> <li>Alteraciones matriz extracelular</li> <li>Infiltración celular</li> <li>Remodelado tisular</li> </ul>
Células	{	<ul style="list-style-type: none"> <li>Monocito/Macrófago/Neutrófilo...</li> <li>Kupffer, microglía y astrocitos</li> <li>Linfocitos T y B</li> </ul>
Moléculas	{	<ul style="list-style-type: none"> <li>Citoquinas pro-inflamatorias (TNF<math>\alpha</math>, IL-1)</li> <li>C-C, C-X-C quimioquinas</li> <li>ROI: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; O<sub>2</sub></li> <li>NO y peroxinitrito</li> <li>PGs, TBXs LTBn</li> <li>APP, Abs</li> </ul>

PG:prostaglandinas; TBX: tromboxanos; LTBn: leucotrienos; APP: proteínas de fase aguda sintetizadas por el hígado; Abs: Anticuerpos.

Th2 y la generación de linfocitos T reguladores (Treg) tiene un papel importante en la naturaleza de la inflamación, sobre todo por los mediadores generados que pueden ser en mayor o menor grado desde pro- a anti-inflamatorios (Galkina *et al.*, 2006; Galkina y Ley, 2009; Li *et al.*, 2008). En la vasculatura humana, una de las características de la inflamación es el papel desempeñado por los macrófagos en la eliminación de productos de oxidación, sobre todo de lípidos, y la muerte posterior por apoptosis de las células implicadas en su captación (Gyrd-Hansen y Meier, 2010), constituyendo ésta la fase de resolución del proceso, lo que restituye la funcionalidad vascular (Curtiss y Tobias, 2009; Li y Karin, 1999; Mukhopadhyay *et al.*, 2009; Mullick *et al.*, 2005 y 2008). Una resolución ineficiente de este proceso constituye una de las causas más importantes del desarrollo del proceso aterogénico, como veremos más adelante.

### **Aterogénesis vascular: factores implicados**

En condiciones normales, las lesiones en los vasos (infecciones, lesiones mecánicas, alteraciones de flujo sanguíneo, etc.) promueven un proceso inflamatorio en el que se reclutan células circulantes hacia la lesión. En primer término infiltran los neutrófilos que liberan múltiples mediadores de inflamación y factores quimiotácticos, seguidos por la acción de monocitos/macrófagos y linfocitos que inician los procesos de defensa típicos de la reacción inflamatoria y que, en el caso de la presencia de patógenos, implica la liberación de moléculas con actividad citotóxica y citostática junto con un proceso de

remodelado tisular y reparación de la matriz extracelular del área afectada, regenerando la estructura característica del vaso y resolviendo por tanto la inflamación (Andersson *et al.*, 2010; Hansson y Libby, 2006; Libby, 2002; Libby *et al.*, 2002). Este proceso incluye la producción por parte de los neutrófilos y macrófagos de moléculas oxidantes (estrés oxidativo y nitrosativo) que modifican la naturaleza de las proteínas y lípidos del torrente sanguíneo. Una de las moléculas más sensibles frente a la oxidación es la lipoproteína de baja densidad (LDL) que, entre otras funciones, participa en el transporte de colesterol y derivados del mismo (colesteril-ésteres), triglicéridos, ácidos grasos y moléculas de naturaleza lipídica en general (figura 2). Estas LDL oxidadas (LDLox), alteradas, son reconocidas eficazmente por los macrófagos, que son monocitos extravasados a la íntima, y normalmente tienen suficiente capacidad para incorporar en su interior y procesar estas moléculas lipídicas modificadas, exportando los productos del metabolismo, entre otros el colesterol, a través de un mecanismo de transporte reverso altamente regulado por la propia acumulación de estos metabolitos en el interior del macrófago. Sin embargo, cuando persiste un grado de activación inflamatoria elevado, estos macrófagos, aunque captan eficazmente las LDLox a través de los denominados receptores "limpiadores" (scavenger; CD36, SR-BI) (Aslanian y Charo, 2006; Greaves y Gordon, 2009), son incapaces de procesar adecuadamente los lípidos (sobre todo los ésteres de colesterol), que de esta forma se acumulan en el interior del macrófago convirtiéndose en lo que se denominan células espumosas, que son las que contribuyen

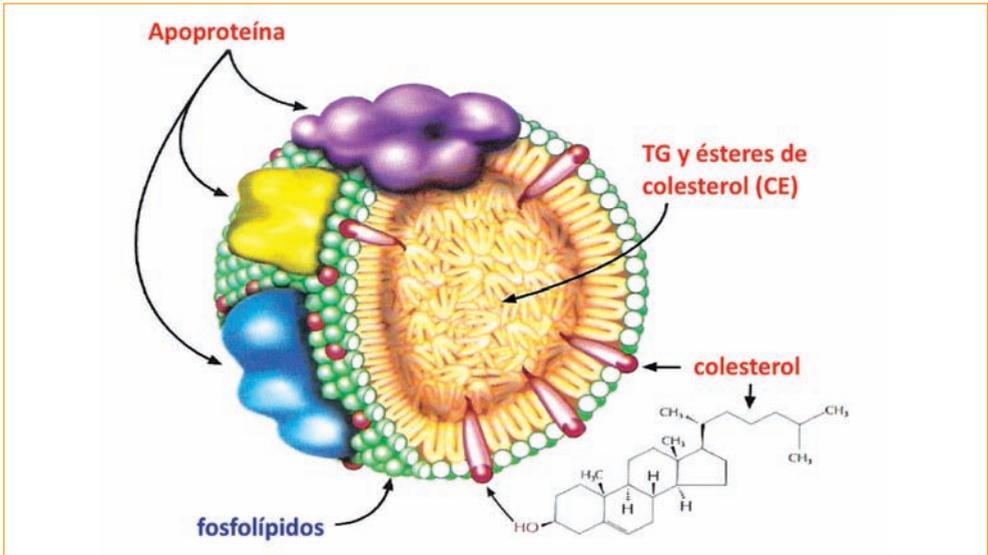


Figura 2. Representación esquemática de una partícula de LDL. Las partículas de LDL sirven, entre otras funciones para el transporte del colesterol, triglicéridos y ácidos grasos. Estas moléculas pueden sufrir procesos de oxidación y otras transformaciones (nitrición, etc.) como resultado de la interacción con moléculas reactivas presentes en la circulación. Son reconocidas por los macrófagos y por otras células que poseen receptores para las LDL o para moléculas alteradas transportadas en las mismas.

al desarrollo del ateroma (Ball *et al.*, 1995; Mantovani *et al.*, 2009; Shibata y Glass, 2009). La situación que de forma simple se acaba de describir es realmente más compleja, pues además del monocito/macrófago, otras células del sistema inmune contribuyen a esta inflamación vascular estimulando la proliferación de las células musculares lisas del vaso, de fibroblastos, así como un desarrollo excesivo de la matriz extracelular que contribuye a la formación de la lesión ateromatosa (Li *et al.*, 2008; Raines y Ross, 1993). En la figura 3 se muestra la clasificación de la lesión según el criterio fijado por la American Heart Association (AHA) para caracterizar la progresión de la enfermedad vascular. Estos ateromas, aunque causan una notable perturbación dinámica en el flujo sanguíneo, no constituyen

en sí mismos un problema, salvo cuando se inicia un nuevo y más probable evento inflamatorio, ya que en el ateroma encuentran refugio con frecuencia diversos patógenos (p. ej.: *Clamydia pneumoniae*), así como pueden desencadenar procesos aterotrombóticos con mayor facilidad. Cuando se repiten estas nuevas rondas de inflamación, el proceso implica la liberación de metaloproteinasas de matriz extracelular que, al participar en la remodelación del ateroma, pueden conducir a su inestabilidad y desprendimiento y, por tanto, causar una trombosis, isquemia miocárdica y/o infarto, dependiendo de la posición del mismo y del grado de alteración. La relevancia de la estabilización de la placa ateromatosa como medida preventiva frente a la aterotrombosis queda de manifiesto por el

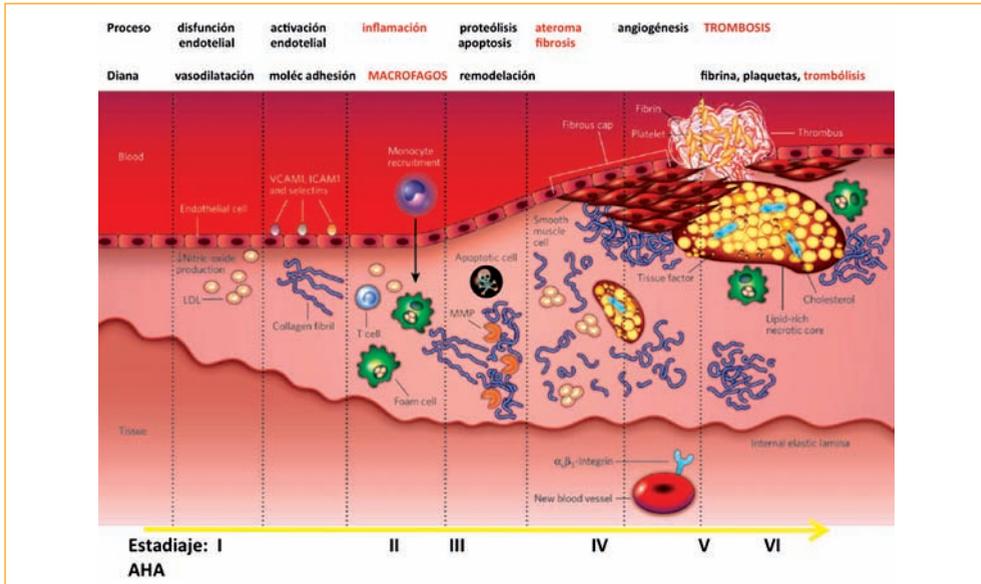


Figura 3. Clasificación de las etapas de desarrollo de la patología vascular según la clasificación de la American Heart Association (AHA). El esquema muestra los cinco estadios reconocidos en la disfunción/lesión vascular. La formación del ateroma resulta de la superposición de elementos lipídicos y proteínas de la matriz extracelular. Puede incluir restos celulares, así como células que incorporan calcio, lo que puede conducir a la calcificación de la placa.

relativo éxito de los estudios clínicos utilizando fármacos destinados al mantenimiento de la integridad de la misma para evitar su remodelación y fragmentación (Ball *et al.*, 1995; Heeneman *et al.*, 2008; Libby y Aikawa, 2002; Waldo *et al.*, 2008).

Una de las causas mayoritarias de la enfermedad cardiovascular aparece pues como resultado de la disfunción vascular y el desarrollo de procesos aterogénicos. Aunque es un campo en el que se ha estudiado intensamente la contribución genética, ambiental y nutricional, sólo en la última década se ha consolidado el papel relevante que desempeñan en la misma los monocitos que se extravasan a los vasos y que en determinadas circunstancias acaban diferenciándose en esos

macrófagos especiales, denominados “células espumosas”, cuya característica más notable es la captación de lípidos y ésteres de colesterol que son retenidos por estas células, pero sin la fase de procesamiento y exportación, dando lugar a su aspecto “espumoso”. Estos macrófagos diferenciados terminalmente en células espumosas mueren por necrosis, en vez de la habitual muerte apoptótica asociada a la resolución de los procesos inflamatorios. La consecuencia de esta necrosis y la falta de un eficaz mecanismo fagocítico es la formación de acúmulos lipídicos y cristales de colesterol característicos de la lesión aterosclerótica. No sólo los macrófagos son constituyentes del ateroma sino que, como resultado de la reacción inflamatoria en la que participan,

aparecen diversas poblaciones de células del sistema inmune y de proliferación local que amplifican esta señalización iniciada por la célula espumosa. La pregunta clave en este punto es comprender cómo este proceso, que cuando ocurre de forma fisiológica es capaz de resolver la inflamación vascular de forma eficaz y "limpia", sin generar depósitos, en determinadas ocasiones, casi siempre asociadas a una exacerbación de la reacción inflamatoria, es incapaz de procesar los lípidos alterados en las LDLox, lo que acaba formando el ateroma y desarrollando la parte vascular de la patología aterotrombótica.

Un problema relevante en el estudio de la ECV es la dificultad en la generación de modelos animales que reproduzcan de forma aceptable la patología humana. Los grandes avances en la modificación genética de roedores han permitido realizar aproximaciones parciales a la patología humana, sobre todo en el campo de la aterosclerosis. Así, se han generado ratones carentes de apolipoproteína E (ApoE) que son capaces de presentar ateromas si se les alimenta con dietas ricas en grasa y colesterol. Sin embargo, se ha visto que esta susceptibilidad al desarrollo de ateromas es muy dependiente del fondo genético del ratón (p. ej.: C57BL/6 *vs.* Swiss o Balb/c), del sexo del animal y de la dieta (cabe recordar que la dieta de laboratorio suele ser rica en soja y flavonoides, y muy poco en grasas saturadas) (Mandillo *et al.*, 2008; Plump y Breslow, 1995; Rosenthal y Brown, 2007). Por otro lado, estos animales no suelen desarrollar procesos aterotrombóticos, a pesar de la generación de grandes placas en la circulación coronaria. Existen además modelos de ratones deficientes en otras molé-

culas clave en la ECV, por ejemplo, déficit en el receptor de LDL, o expresando transgenes que favorecen aspectos parciales de la patología (Ross y Agius, 1992). También se han desarrollado otros modelos donde la alteración genética conduce a la formación de pequeños ateromas, que son indicativos de ECV en humanos; por ejemplo, los que expresan algunas quimioquinas que favorecen la extravasación de células circulantes, animales deficientes en LXR, etc. (Aslanian y Charo, 2006; Charo y Ransohoff, 2006; Galkina *et al.*, 2006; Kalaany y Mangelsdorf, 2006; Li *et al.*, 2008). Son mejores modelos los ateromas desarrollados en conejos y cerdos alimentados con dietas grasas y ricas en colesterol, donde la ECV se manifiesta con severidad. Estos últimos modelos sirven para el desarrollo de protocolos de diagnóstico de la patología, siendo este un campo en el que la aplicación de técnicas no invasivas está adquiriendo un gran relieve (Kircher *et al.*, 2008; Nahrendorf *et al.*, 2010).

Este aspecto unívoco de la patología cardiovascular en su aspecto inflamatorio se debe al alto grado de conservación entre los mamíferos de las señales que integran la respuesta inflamatoria. Uno de los componentes más importante es la activación de NF- $\kappa$ B (Vallabhapurapu y Karin, 2009). Este elemento señalizador permite la convergencia de múltiples vías de comunicación celular cuyos receptores se sitúan en la membrana plasmática (TLRs, receptores de citoquinas pro-inflamatorias, etc.), así como en el interior celular (los denominados NLRs, que son receptores intracelulares de "marcas" asociadas a patógenos). La activación de NF- $\kappa$ B pone en marcha la expresión de genes que intensifican la

respuesta (citoquinas pro-inflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-1 entre otras), moléculas de adhesión y efectores de inflamación como la óxido nítrico sintasa tipo 2 (la enzima que produce grandes cantidades de NO) y la ciclooxigenasa 2 (que produce de forma continua grandes cantidades de prostaglandinas). Un elemento clave en la activación de NF- $\kappa$ B es la activación del complejo de la I $\kappa$ B quinasa, una enzima que es el verdadero integrador de la señalización y responsable de la fosforilación de NF- $\kappa$ B, una de cuyas subunidades, I $\kappa$ B, es degradada como resultado de la misma, permitiendo la traslocación al núcleo de la forma transcripcionalmente activa del complejo NF- $\kappa$ B. Esto se representa en

la figura 4. Es en el núcleo donde dirige la expresión de genes diana, típicos de la reacción inflamatoria (oscila entre 200 y 700, dependiendo de los estímulos puestos en marcha para su activación). Buena prueba de la eficacia de este mecanismo señalizador es que NF- $\kappa$ B constituye una de las dianas más relevantes en la regulación farmacológica de la reacción inflamatoria.

### Receptores nucleares, inflamación y metabolismo lipídico

Uno de los avances conceptuales más relevantes en la comprensión de la pato-

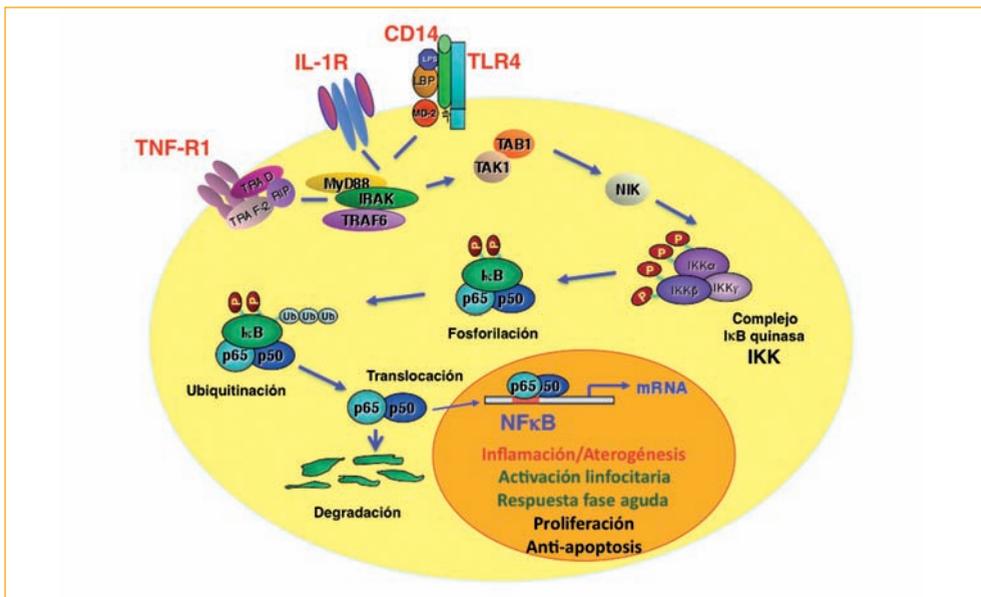


Figura 4. NF- $\kappa$ B integra la señalización pro-inflamatoria en el macrófago. El macrófago expresa receptores para "motivos asociados a la presencia de patógenos", así como múltiples receptores de citoquinas proinflamatorias. Estos receptores señalizan a través de una ruta común, además de otras alternativas, que convergen en la activación del complejo de la I $\kappa$ Bquinasa (IKK), una diana que a su vez es regulada por otras vías de señalización intracelular. La activación de IKK promueve la fosforilación y degradación de I $\kappa$ B, una proteína inhibidora del complejo NF- $\kappa$ B que lo retiene en el citosol de la célula. Una vez liberado del inhibidor, el complejo p50.p65 de NF- $\kappa$ B migra al núcleo, donde dirige la transcripción de una serie de genes implicados en la generación de la respuesta inflamatoria.

logía vascular relacionada con la aterosclerosis ha sido la identificación del papel regulador ejercido sobre la misma por los receptores nucleares, en particular PPARs y LXRs (Andersson *et al.*, 2010; Chawla, 2010; Glass y Saijo, 2010; Huang y Glass, 2010; Marx *et al.*, 2001; Straus y Glass, 2007). Los receptores nucleares constituyen una familia de factores de transcripción con un importante grado de conservación filogenética. A lo largo de la evolución, tanto las secuencias del DNA a las que se unen, como los ligandos que

reconocen, así como la afinidad y especificidad de los mismos, ha generado una diversidad de receptores que se resume en la tabla 4. Los receptores nucleares funcionan como homo o heterodímeros, siendo el receptor del ácido 9-cis-retinoico (RXR) el comodín en la mayoría de los complejos heterodiméricos (Chawla *et al.*, 2001; Mangelsdorf y Evans, 1995; McKenna *et al.*, 2009). Como muestra la tabla, los receptores nucleares clásicos presentan alta afinidad por su agonista (que suele ser una hormona; p. ej.: glucocorticoides,

**Tabla 4. La superfamilia de los receptores nucleares.**

Receptores endocrinos Alta afinidad Lípidos hormonales		Receptores huérfanos adoptados Baja afinidad Lípidos dieta		Receptores huérfanos Desconocidos	
ER $\alpha,\beta$	Estrógeno	RXR $\alpha,\beta,\gamma$	9-cis RA, DHA	SF-1	?
PR	Progesterona	PPAR $\alpha,\beta,\gamma$	Prostanoides, FA	LRH-1	?
AR	Andrógeno	LXR $\alpha,\beta$	Oxi-esteroles	SHP	?
GR	Glucocorticoide	FXR	Ácidos biliares	TLX	?
MR	Mineralocortic.	PXR/SXR	Xenobióticos	PNR	?
RAR $\alpha,\beta$	Retinoico	CAR	Xenobióticos	NGFI-B $\alpha,\beta,\gamma$	?
TR $\alpha,\beta,\gamma$	H. tiroidea			ROR $\alpha,\beta,\gamma$	?
VDR	Vitamina D			ERR $\alpha,\beta,\gamma$	?
				RVR $\alpha,\beta,\gamma$	?
				GCNF	?
				TR2,4	?
				HNF	?
				HNF-4	?
				COUP-TF $\alpha,\beta,\gamma$	

Se han agrupado en tres grandes bloques: los receptores del sistema endocrino; los receptores "adoptados", al identificarse sus probables ligandos fisiológicos (la mayoría metabolitos relacionados con lípidos de la dieta y sus formas oxidadas); los receptores huérfanos, en los que no ha sido posible identificar con claridad sus activadores. La mayor parte de los receptores huérfanos forma heterodímeros con RXR, aunque en ocasiones se han identificado formas homodiméricas e incluso algunas formas heterodiméricas alternativas.

hormona tiroidea, etc.), mientras que existen otros que son activados por moléculas de naturaleza lipídica relacionadas con elementos nutricionales o procedentes del metabolismo celular (receptores “adoptados”, pues hasta hace poco se desconocía quienes eran sus activadores) (Mangelsdorf y Evans, 1995). Así, los PPARs son activados por ácidos grasos insaturados, por productos de oxidación de los mismos, por lípidos producidos por la ciclooxigenasa (prostaglandinas como PGE<sub>2</sub>, tromboxanos, etc.), y por pro-fármacos, como los fibratos, etc. (tabla 5). En el caso de PPAR $\gamma$ , que es el que se expresa en el macrófago de forma preponderante, el activador fisiológico son los ácidos grasos oxidados y el activador farmacológico son

los derivados de las tiazolidindionas (TZDs), ampliamente empleadas en la sensibilización a la insulina en pacientes diabéticos y cuyo uso clínico puso de manifiesto que tenía efectos cardioprotectores que iban más allá de su acción pro-insulínica y activadora en el tejido adiposo (Kalaany y Mangelsdorf, 2006; Kucharova y Farkas, 2002; Tontonoz y Mangelsdorf, 2003). Estudios farmacológicos muy amplios han puesto de manifiesto que las TZDs ejercen un papel antiinflamatorio en una gran variedad de tejidos, entre los que cabe destacar por su interés en este contexto los macrófagos que infiltran el tejido adiposo y que revisten una gran importancia en la patología de la obesidad y diabetes, y en la conversión de los

**Tabla 5. Mecanismos fisiológicos y farmacológicos de activación de los PPARs.**

	PPAR $\alpha$	PPAR $\gamma$	PPAR $\delta$
			
<b>Expresión</b>	<p>hígado</p> <p>riñón</p> <p>corazón</p> <p>músculo</p>	<p>adiposo</p> <p>bazo</p> <p>intestino/colon</p> <p>monocitos → macrófago</p>	<p>ubicua</p>
<b>Activadores</b>			
Fisiológicos	<p>ácidos grasos</p> <p>8-HETE</p> <p>LTB4</p>	<p>PUFAs</p> <p>15dPGJ2</p> <p>9/13-HODE</p>	<p>ácidos grasos</p> <p>carbaprostaciclina</p>
Farmacológicos	Fibratos	Tiazolidindionas (TZDs)	

Se han caracterizado tres tipos de receptores de activadores peroxisomales (PPARs) con una expresión tisular específica. Los ligandos fisiológicos y los farmacológicos, algunos de ellos de uso terapéutico están reseñados. Los monocitos expresan niveles muy bajos de PPAR $\gamma$ , exacerbando su expresión al diferenciarse a macrófagos. LTB, leucotrienos; 15dPGJ2, 15-deoxiprostaglandina J2.

monocitos circulantes en macrófagos diferenciados en células espumosas, responsables de parte de la lesión aterogénica en el lecho vascular (Chawla, 2010; Galkina y Ley, 2009; Li y Glass, 2007).

Esta acción antiinflamatoria y antiaterogénica de PPAR $\gamma$  se ha puesto de manifiesto utilizando macrófagos que carecen de PPAR $\gamma$  y, por otro lado, estimulando farmacológicamente PPAR $\gamma$  en células que lo expresan para asegurar su completa activación. Como se muestra en la figura 5 utilizando una línea celular de macrófagos control y otra que carece de PPAR $\gamma$ , al exponer las células a un estímulo proinflamatorio como el lipopolisacárido de la pared bacteriana (LPS), se produce una gran activación en la expresión de genes inflamatorios en los macrófagos que carecen de PPAR $\gamma$ , comparado con la situación observada en las células equivalentes que lo expresan. Esto se aprecia muy claramente cuando se evalúa la producción de citoquinas como TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-6, o mediadores de inflamación como el óxido nítrico o la PGE $_2$ . Por otro lado, cuando se consigue la máxima activación de la vía mediante rosiglitazona, que es un fármaco agonista de PPAR $\gamma$ , previamente a la estimulación con LPS, se observa que todavía existe una capacidad notable de activación de la función de este receptor nuclear que reduce la expresión de genes inflamatorios en más de un 40-60% por término medio. Para confirmar la funcionalidad de PPAR $\gamma$ , se ha analizado la expresión de un gen diana como es el receptor tipo "scavenger" CD36, que participa activamente en la captación de LDL oxidadas (Becker *et al.*, 2010; Hans-

son y Libby, 2006; Hansson *et al.*, 2002; Li y Glass, 2007).

La línea deficiente en PPAR $\gamma$  carece de la capacidad de expresar este receptor, así como de SR-BI, de la misma familia de "scavengers", o ApoE (un receptor de lipoproteínas regulado por esta vía). Por otro lado, uno de los genes diana de PPAR $\gamma$  es

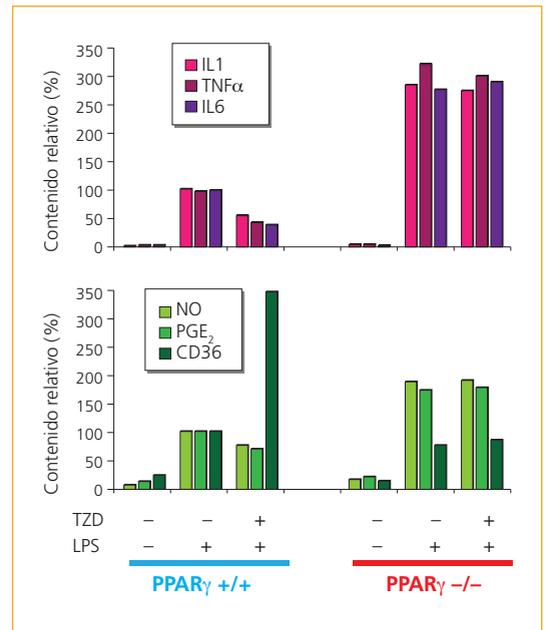


Figura 5. Activación proinflamatoria de macrófagos carentes de PPAR $\gamma$ . Papel de este receptor nuclear en la expresión de marcadores de inflamación. La línea celular macrófágica RAW264.7 es interferida para asegurar la completa ausencia de PPAR $\gamma$ , por debajo de niveles de respuesta a estimuladores farmacológicos como la rosiglitazona, una tiazolidindiona (TzD). Estos macrófagos se estimulan con LPS o con TzD y a continuación LPS, determinándose la acumulación en el medio de cultivo de IL-1, TNF- $\alpha$  e IL-6 (panel superior), o la acumulación de nitritos y prostaglandina E2 como marcadores de la actividad de la óxido nítrico sintasa 2 y ciclooxigenasa 2, respectivamente. Los niveles de expresión de CD36, un receptor tipo "scavenger" altamente sensible a la activación de PPAR $\gamma$ , se muestra en el panel inferior. Los datos corresponden a experimentos realizados en nuestro laboratorio tras 18 h de incubación de las células con los estímulos indicados.

LXR $\alpha$  que es sobre-expresado de forma secuencial tras la activación de PPAR $\gamma$  y de esta forma es capaz de percibir la presencia (y acumulación) de ésteres de colesterol en el interior del macrófago y, a través de la expresión de sus genes diana, desempeña una acción de procesamiento de estos lípidos.

Un punto importante dentro de esta secuencia de eventos es el aspecto de acción concertada entre PPAR $\gamma$  y LXR $\alpha$  de manera que promueven una mejora del metabolismo lipídico en el macrófago,

evitando su transformación en célula espumosa, tal como se resume en la figura 6. Entre otros mecanismos, la exportación del colesterol y lípidos a través de los transportadores de la familia ABC (ABCA1, ABCG, etc.) es muy dependiente de la expresión y activación de LXR $\alpha$  (Becker *et al.*, 2010; Hansson y Libby, 2006; Li y Glass, 2007).

Tanto en modelos animales carentes de PPAR $\gamma$  como de LXR $\alpha$  ha sido posible poner de manifiesto que, en ausencia de la acción coordinada de estos receptores

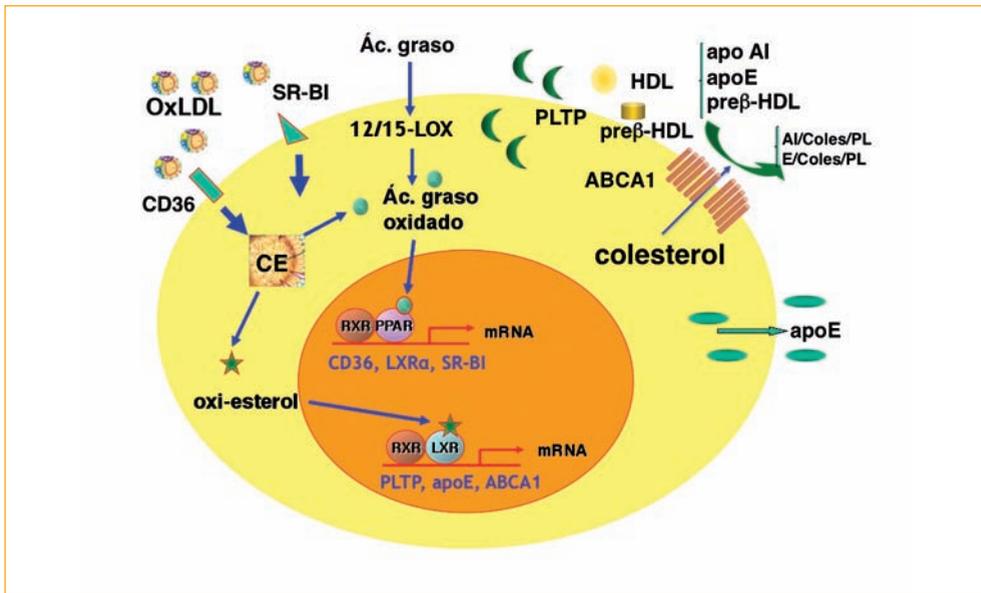


Figura 6. Integración de la acción de receptores nucleares en la regulación de la dinámica de lípidos y colesterol en el macrófago. La presencia de LDL con productos oxidados o alterados, condición asociada con frecuencia a los procesos inflamatorios, regula positivamente la expresión de receptores tipo "scavenger" que favorecen la captación de estas moléculas (colesterol y derivados; ácidos grasos y ácidos grasos oxidados) que se acumulan en el macrófago. Los ácidos grasos activan al receptor nuclear PPAR $\gamma$ , muy abundante en el macrófago extravasado, y promueven la expresión de más receptores scavenger y de otros receptores nucleares como LXR $\alpha$ . A su vez, los ésteres de colesterol activan a LXR $\alpha$  que promueve la transcripción de un reducido número de genes implicados en el procesamiento de lípidos (p. ej.: ácido graso sintasa), transporte de lípidos y colesterol (SERBPs) y transportadores de membrana del tipo de los "cassettes ABC" que están implicados en la exportación del colesterol desde el macrófago, evitando su acumulación en estas células. A su vez, tanto PPARs como LXRs son potentes reguladores negativos de la activación de la transcripción dependiente de NF- $\kappa$ B, Satat-1 e IRF-1 (estos últimos, factores de transcripción regulados por IFN $\gamma$ ). De esta forma, los receptores nucleares favorecen el procesamiento lipídico y atenúan la inflamación.

nucleares, la sensibilidad al desarrollo de lesiones ateromatosas y la respuesta inflamatoria están notablemente exacerbadas. Es más, estos receptores desempeñan un papel dual, pues en conjunto contribuyen a disminuir la inflamación y, por otro lado, potencian el metabolismo y procesamiento de lípidos y colesterol a través de la regulación de sus genes diana, como la ácido graso sintasa, los transportadores de la familia ABC, la expresión de proteínas de transporte de colesterol (SREBP-1c), las enzimas implicadas en metabolismo de colesterol y ácidos biliares, etc. Por otro lado, la acción antiinflamatoria se desarrolla a través de mecanismos de trans-represión que se ejercen sobre los factores clave de regulación de la respuesta inflamatoria, tales como NF- $\kappa$ B, Stat-1 $\alpha$ , IRF-1 y en menor grado AP-1. Esto se ha podido poner de manifiesto, tanto a través de la regulación de la expresión de genes inflamatorios como del estudio en detalle de los promotores de los mismos (Castrillo y Tontonoz, 2004; Marathe *et al.*, 2006). La mayor parte de estos estudios proceden de experimentación realizada en modelos animales (rata y ratón), sin embargo, aunque con ciertos matices, el mismo tipo de regulación parece existir en el hombre. En este aspecto, hay que considerar dos puntos: a) la existencia de polimorfismos y formas de "corte y empalme" específicas de PPAR $\gamma$  que tienen sobre todo un efecto sobre su actividad como transrepresores, y b) la concatenación jerárquica entre PPAR $\gamma$  y LXR $\alpha$  que parece más restrictiva en el hombre que en roedores. Experimentos preliminares realizados en pacientes con hipercolesterolemia familiar no tratada (asintomáticos en la fase de diagnóstico) han mostrado

que los monocitos aislados de sangre periférica y diferenciados *in vitro* a macrófagos mediante tratamiento con una pequeña dosis de ésteres de forbol, presentan una marcada resistencia a la expresión de LXR $\alpha$  cuando se estimulan con rosiglitazona en estas condiciones. Es más, en estos macrófagos se ha podido constatar que la expresión de genes diana de LXR $\alpha$ , tales como ABCA1 o SREBP-1c está muy disminuida frente a la que se observa en macrófagos de pacientes con niveles normales de colesterol y lipoproteínas, poniendo de manifiesto el control fisiológico que ejercen los colesterol ésteres sobre la actividad de LXR.

Así pues, el sistema PPAR $\gamma$ /LXR $\alpha$  y en menor grado RXR $\alpha$  que participa en la formación de los heterodímeros con estos receptores nucleares, tiene un claro papel dual antiinflamatorio y metabólico sobre ácidos grasos, lípidos y colesterol, favoreciendo su procesamiento y tráfico, incluido el transporte reverso del colesterol hacia el exterior del macrófago (A-González *et al.*, 2009; Castrillo y Tontonoz, 2004; Chawla, 2010; Chawla *et al.*, 2001). Esta acción dual supone un punto de vista innovador dentro del campo de los receptores nucleares, pues asocia su función con dos actividades que previamente no se habían relacionado, aunque existía evidencia experimental sobre la existencia de alguna forma de regulación cruzada: inflamación y metabolismo/tráfico de lípidos y colesterol en el sistema inmune. Estos factores de transcripción puestos en el contexto de la superfamilia de los receptores nucleares revelan una acción mucho más selectiva que la desarrollada por el receptor de glucocorticoides a nivel sistémico. Así, a diferencia de

la antiinflamación ejercida por estos a través de su unión al receptor GR, los metabolitos derivados de los ácidos grasos oxidados y del colesterol son los activadores de estas familias de PPARs y LXR, con la ventaja adicional de su regulación “a la carta”, ya que es la propia aparición de ácidos grasos oxidados, debidos al estrés oxidativo típico de la activación de la respuesta innata, la que inicia la cascada de señales que finalmente promoverán la captación de las LDLox a través de los receptores “limpiadores” y la metabolización de los lípidos alterados evitando de esta manera una retención patológica en el macrófago que incide en su transformación en célula espumosa, contribuyendo de esta manera a la aterogénesis.

Además de lo expuesto anteriormente sobre el mecanismo de acción concatenado del sistema PPAR $\gamma$ /LXR en lo que se refiere a captación de LDL modificadas y el procesamiento de las moléculas lipídicas que transportan, existe un segundo proceso que sinergiza con el anterior y que es llevado a cabo por PPAR $\delta$  (expresado ubicuamente en prácticamente todos los tipos celulares) y LXR $\alpha$  potenciando la actividad fagocítica del macrófago (A-González *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2003; Mukundan *et al.*, 2009). Estos efectos cuya relevancia fisiopatológica sigue en estudio, revelan que a través de la expresión de receptores específicos de membrana implicados en el reconocimiento de células apoptóticas, el macrófago es capaz de fagocitar y procesar a otras células, incluidos macrófagos cargados de lípidos, a través de un mecanismo específico de “etiquetado” de células destinadas a muerte celular programada. La activación de PPAR $\delta$  se ha visto que

induce la expresión de receptores “scavenger” de la familia de TIM-4 que están especializados en la fagocitosis de células apoptóticas con exposición de fosfatidilserina en su membrana plasmática, una de las huellas inequívocas de las células que han iniciado este proceso de muerte celular. Es más, PPAR $\delta$  es capaz de favorecer esta fagocitosis por un mecanismo alternativo también dependiente de su activación por ácidos grasos y es a través de la síntesis y secreción de proteínas como MFGE-8, que participa en la opsonización, junto con la proteína C1q del complemento, para favorecer la interacción de células apoptóticas con las integrinas y permitir su fagocitosis de una forma todavía más eficaz, tal como se resume en la figura 7. Por otro lado, la activación de LXR por oxisteroles promueve la expresión de otro receptor de células apoptóticas, MER, que tiene la peculiaridad de reconocer además otras proteínas específicas de la célula apoptótica, como son la proteína S y GAS-6. De esta manera, se produce una acción concertada de reconocimiento molecular de las células que han participado en una respuesta inflamatoria, siendo etiquetadas para su rápido reconocimiento y fagocitosis por macrófagos más funcionales que todavía no han expresado estas marcas de apoptosis. No cabe duda que la correcta actuación de este mecanismo señalizador refuerza e integra el papel de diversos miembros de la familia de PPAR y de LXR en una acción concertada destinada a la resolución de la inflamación, condición ésta que es esencial para evitar los procesos de inflamación crónica o de depósitos de lípidos por muerte necrótica de las células que los habían captado.

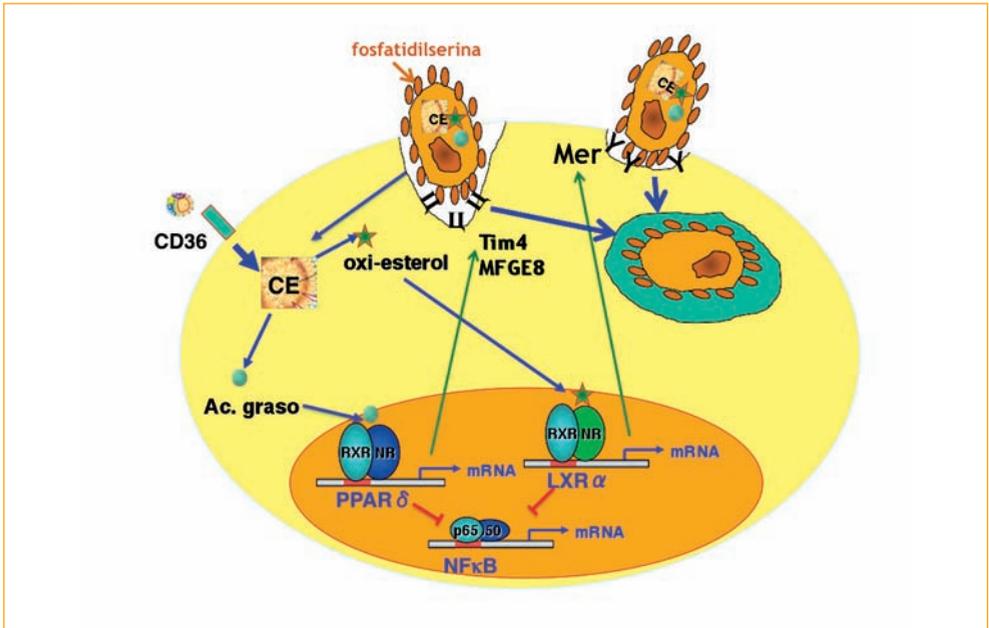


Figura 7. Cooperación entre receptores nucleares durante el proceso fagocítico del macrófago. Los receptores nucleares de la familia de PPAR (más en particular PPARδ, expresado ubicuamente en las células) y LXR promueven la expresión de receptores que potencian la fagocitosis del macrófago a través de dos vías convergentes: PPARδ promueve la vía de Tim4/MFGE8 y de unión de C1q —una proteína del complemento—, mientras que LXR promueve la expresión de Mer, un receptor implicado en la vía fagocítica. De esta forma, los receptores nucleares contribuyen sinérgicamente a la eliminación de células fagocíticas que pueden estar, a su vez, en condiciones de apoptosis. Esta redundancia de mecanismos de eliminación justifica en parte la eficacia del macrófago en la eliminación de células que acumulan lípidos en su interior, sobre todo macrófagos implicados en captación a través de receptores “scavenger”, y evitan la diferenciación terminal a células espumosas, una de las causas de la disfunción vascular y la generación de ateromas.

## Perspectivas

Los avances realizados en la comprensión de los mecanismos moleculares implicados en el proceso aterogénico, la integración entre inflamación y procesamiento/transformación de los lípidos alterados transportados por las lipoproteínas de la sangre y la fagocitosis de las células apoptóticas, permiten intuir nuevas vías de intervención farmacológica en el tratamiento de la enfermedad cardiovascular. Por otro lado, estos datos sirven para reforzar el papel de la farmacología tradicional basada en el uso,

entre otros, pero de forma prioritaria, de estatinas en la regulación de la colesterolemia.

## Bibliografía recomendada

A-González N, Bensinger SJ, Hong C, Beceiro S, Bradley MN, Zelcer N, Deniz J, Ramírez C, Díaz M, Gallardo G, et al. Apoptotic cells promote their own clearance and immune tolerance through activation of the nuclear receptor LXR. *Immunity*. 2009; 31:245-58.

Andersson J, Libby P, Hansson GK. Adaptive immunity and atherosclerosis. *Clin Immunol*. 2010; 134:33-46.

- Aslanian AM, Charo IF. Targeted disruption of the scavenger receptor and chemokine CXCL16 accelerates atherosclerosis. *Circulation*. 2006; 114:583-90.
- Ball RY, Stowers EC, Burton JH, Cary NR, Skepper JN, Mitchinson MJ. Evidence that the death of macrophage foam cells contributes to the lipid core of atheroma. *Atherosclerosis*. 1995; 114:45-54.
- Becker L, Gharib SA, Irwin AD, Wijsman E, Vaisar T, Oram JF, Heinecke JW. A macrophage sterol-responsive network linked to atherogenesis. *Cell Metab*. 2010; 11:125-35.
- Capewell S, Graham H. Will Cardiovascular Disease Prevention Widen Health Inequalities? *PLoS Med*. 2010; 7:e1000320.
- Castrillo A, Tontonoz P. PPARs in atherosclerosis: the clot thickens. *J Clin Invest*. 2004; 114:1538-40.
- Curtiss LK, Tobias PS. Emerging role of Toll-like receptors in atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2009; 50 Suppl:S340-5.
- Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med*. 2006; 354:610-21.
- Chawla A. Control of macrophage activation and function by PPARs. *Circ Res*. 2010; 106:1.559-69.
- Chawla A, Repa JJ, Evans RM, Mangelsdorf DJ. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files. *Science*. 2001; 294:1.866-70.
- Galkina E, Kadl A, Sanders J, Varughese D, Sarembock IJ, Ley K. Lymphocyte recruitment into the aortic wall before and during development of atherosclerosis is partially L-selectin dependent. *J Exp Med*. 2006; 203:1.273-82.
- Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. *Annu Rev Immunol*. 2009; 27:165-97.
- Glass CK, Saijo K. Nuclear receptor transrepression pathways that regulate inflammation in macrophages and T cells. *Nat Rev Immunol*. 2010; 10:365-76.
- Greaves DR, Gordon S. The macrophage scavenger receptor at 30 years of age: current knowledge and future challenges. *J Lipid Res* 2009; 50 suppl.:S282-6.
- Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010; 140:883-99.
- Gyrd-Hansen M, Meier P. IAPs: from caspase inhibitors to modulators of NF- $\kappa$ B, inflammation and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2010; 10:561-74.
- Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol*. 2006; 6:508-19.
- Hansson GK, Libby P, Schonbeck U, Yan, ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res*. 2002; 91:281-91.
- Heeneman S, Lutgens E, Schapira KB, Daemen MJ, Biessen EA. Control of atherosclerotic plaque vulnerability: insights from transgenic mice. *Front Biosci*. 2008; 13:6.289-313.
- Hegele RA. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nat Rev Genet*. 2009; 10:109-21.
- Huang W, Glass CK. Nuclear receptors and inflammation control: molecular mechanisms and pathophysiological relevance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010; 30:1.542-9.
- Johansen CT, Hegele RA. Predictive genetic testing for coronary artery disease. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2009; 46:343-60.
- Kalaany NY, Mangelsdorf DJ. LXRS and FXR: the yin and yang of cholesterol and fat metabolism. *Annu Rev Physiol*. 2006; 68:159-91.
- Kircher MF, Grimm J, Swirski FK, Libby P, Gerszten RE, Allport JR, Weissleder R. Noninvasive in vivo imaging of monocyte trafficking to atherosclerotic lesions. *Circulation*. 2008; 117:388-95.
- Kucharova S, Farkas R. Hormone nuclear receptors and their ligands: role in programmed cell death (review). *Endocr Regul*. 2002; 36:37-60.

- Lee CH, Chawla A, Urbiztondo N, Liao D, Boisvert WA, Evans RM, Curtiss LK. Transcriptional repression of atherogenic inflammation: modulation by PPAR $\delta$ . *Science*. 2003; 302:453-7.
- Li AC, Glass CK. Use of mouse models to evaluate roles of nuclear receptors and their ligands in the pathogenesis and treatment of atherosclerosis. *Curr Drug Targets*. 2007; 8:1.273-87.
- Li G, Sanders JM, Bevard MH, Sun Z, Chumley JW, Galkina EV, Ley K, Sarembock IJ. CD40 ligand promotes Mac-1 expression, leukocyte recruitment, and neointima formation after vascular injury. *Am J Pathol*. 2008; 172:1.141-52.
- Li N, Karin M. Is NF- $\kappa$ B the sensor of oxidative stress? *FASEB*. 1999; J 13:1.137-43.
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002; 420:868-74.
- Libby P, Aikawa M. Stabilization of atherosclerotic plaques: new mechanisms and clinical targets. *Nat Med*. 2002; 8:1.257-62.
- Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002; 105:1.135-43.
- Lin WW, Karin MA. Cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest*. 2007; 117:1.175-83.
- Mandillo S, Tucci V, Holter SM, Meziane H, Banhaabouchi MA, Kallnik M, Lad HV, Nolan PM, Ouagazzal AM, Coghill EL, et al. Reliability, robustness, and reproducibility in mouse behavioral phenotyping: a cross-laboratory study. *Physiol Genomics*. 2008; 34:243-55.
- Mangelsdorf DJ, Evans RM. The RXR heterodimers and orphan receptors. *Cell*. 1995; 83:841-50.
- Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Curr Mol Med*. 2010; 10:369-73.
- Mantovani A, Garlanda C, Locati M. Macrophage diversity and polarization in atherosclerosis: a question of balance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29:1.419-23.
- Marathe C, Bradley MN, Hong C, López F, Ruiz de Galarreta CM, Tontonoz P, Castrillo A. The arginase II gene is an anti-inflammatory target of liver X receptor in macrophages. *J Biol Chem*. 2006; 281:32.197-206.
- Marx N, Libby P, Plutzky J. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and their role in the vessel wall: possible mediators of cardiovascular risk? *J Cardiovasc Risk*. 2001; 8:203-10.
- Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*. 2006; 3:e442.
- McKenna NJ, Cooney AJ, DeMayo FJ, Downes M, Glass CK, Lanz RB, Lazar MA, Mangelsdorf DJ, Moore DD, Qin J, et al. Minireview: Evolution of NURSA, the Nuclear Receptor Signaling Atlas. *Mol Endocrinol*. 2009; 23:740-6.
- Mendelsohn ME, Karas RH. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science*. 2005; 308:1.583-7.
- Mukhopadhyay S, Pluddemann A, Gordon S. Macrophage pattern recognition receptors in immunity, homeostasis and self tolerance. *Adv Exp Med Biol*. 2009; 653:1-14.
- Mukundan L, Odegaard JI, Morel CR, Heredia JE, Mwangi JW, Ricardo-González RR, Goh YP, Eagle AR, Dunn SE, Awakuni JU, et al. PPAR- $\delta$  senses and orchestrates clearance of apoptotic cells to promote tolerance. *Nat Med*. 2009; 15:1.266-72.
- Mullick AE, Soldau K, Kiosses WB, Bell TA, 3rd, Tobias PS, Curtiss LK. Increased endothelial expression of Toll-like receptor 2 at sites of disturbed blood flow exacerbates early atherogenic events. *J Exp Med*. 2008; 205:373-83.
- Mullick AE, Tobias PS, Curtiss LK. Modulation of atherosclerosis in mice by Toll-like receptor 2. *J Clin Invest*. 2005; 115:3.149-56.
- Musunuru K, Strong A, Frank-Kamenetsky M, Lee NE, Ahfeldt T, Sachs KV, Li X, Li H, Kuperwasser N, Ruda VM, et al. From non-coding variant to phenotype via SORT1 at the 1p13 cholesterol locus. *Nature* 466:714-9.

- Nahrendorf M, Pittet MJ, Swirski FK. Monocytes: protagonists of infarct inflammation and repair after myocardial infarction. *Circulation*. 2010; 121:2.437-45.
- Nahrendorf M, Sosnovik D, Chen JW, Panizzi P, Figueiredo JL, Aikawa E, Libby P, Swirski FK, Weissleder R. Activatable magnetic resonance imaging agent reports myeloperoxidase activity in healing infarcts and noninvasively detects the antiinflammatory effects of atorvastatin on ischemia-reperfusion injury. *Circulation*. 2008; 117:1.153-60.
- Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature*. 2002; 420:846-52.
- Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell*. 2010; 140:871-82.
- Plump AS, Breslow JL. Apolipoprotein E and the apolipoprotein E-deficient mouse. *Annu Rev Nutr*. 1995; 15:495-518.
- Raines EW, Ross R. Smooth muscle cells and the pathogenesis of the lesions of atherosclerosis. *Br Heart J*. 1993; 69:530-7.
- Rosamond W, Flegal K, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N, Hailpern SM, Ho M, Howard V, Kissela B, et al. Heart disease and stroke statistics-2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2008; 117:e25-146.
- Rosenthal N, Brown S. The mouse ascending: perspectives for human-disease models. *Nat Cell Biol*. 2007; 9:993-9.
- Ross R, Agius L. The process of atherogenesis; cellular and molecular interaction: from experimental animal models to humans. *Diabetologia*. 1992; 35 (suppl. 2):S34-40.
- Ross R, Glomset J, Harker L. Response to injury and atherogenesis. *Am J Pathol*. 1977; 86:675-84.
- Shibata N, Glass CK. Regulation of macrophage function in inflammation and atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2009; 50 suppl.: S277-81.
- Straus DS, Glass CK. Anti-inflammatory actions of PPAR ligands: new insights on cellular and molecular mechanisms. *Trends Immunol*. 2007; 28:551-8.
- Swirski FK, Weissleder R, Pittet MJ. Heterogeneous in vivo behavior of monocyte subsets in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29:1.424-32.
- Terzic J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology*. 2010; 138:2.101-14 e2.105.
- Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Koseki M, Pirruccello JP, Ripatti S, Chasman DI, Willer CJ, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*. 2010; 466:707-13.
- Tontonoz P, Mangelsdorf DJ. Liver X receptor signaling pathways in cardiovascular disease. *Mol Endocrinol*. 2003; 17:985-93.
- Vallabhapurapu S, Karin M. Regulation and function of NF- $\kappa$ B transcription factors in the immune system. *Annu Rev Immunol*. 2009; 27:693-733.
- Waldo SW, Li Y, Buono C, Zhao B, Billings EM, Chang J, Kruth HS. Heterogeneity of human macrophages in culture and in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol*. 2008; 172:1.112-26.
- Weiss RA. Gulliver's travels in HIVland. *Nature*. 2001; 410:963-7.

# Efectos beneficiosos de la alimentación con complementos con soja sobre los genes de longevidad

José Viña Ribes y Gloria Olaso González. *Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Valencia.*

## Los genes de longevidad: descripción y modulación de los mismos

Los genes de longevidad son aquellos cuya modulación resulta en un alargamiento de la duración de la vida o en una mejora en la calidad de la misma. Una excelente revisión sobre estos genes de longevidad fue publicada en *Scientific American* (1). En ella los autores se preguntaban literalmente si el DNA puede parar el tiempo. Naturalmente no se trata del tiempo cosmológico sino del tiempo biológico. Un enlentecimiento de este paso del tiempo inmediatamente conduce a un alargamiento de la vida.

Entre los principales genes de longevidad que se han identificado están los antioxidantes (2), las sirtuinas (1), las hormonas del eje de señalización relacionadas con la somatomenina C (hoy más conocida como IGF1), el p53 (3), la telomerasa (4) o más recientemente y, aún no publicado por nuestro laboratorio, el RAS/GRF1. En nuestro laboratorio hemos contribuido a identificar los antioxidantes, la telomerasa, el p53 y el RAS como genes de longevidad.

En realidad, lo que buscamos es identificar genes de longevidad para después poder encontrar modificaciones que afec-

ten a la longevidad manipulando estos genes con cambios en la nutrición o en la fisiología (por ejemplo, el ejercicio). Naturalmente, en este momento está fuera de lugar la idea de hacer terapia génica con los genes de longevidad. Modificar genéticamente a un ser humano para intentar que viva más en este momento presenta muchísimos más inconvenientes que ventajas. Sin embargo, la modificación nutricional, fisiológica o quizá farmacológica de estos genes puede alargar la vida y, sobre todo, mejorar la calidad de la misma en las etapas finales sin los enormes riesgos de la terapia génica.

Un claro ejemplo de activación de genes de longevidad mediante una modificación nutricional es la restricción calórica. Ésta consiste en suministrar al organismo un 70 u 80% de las calorías que comería espontáneamente, manteniendo, sin embargo, el aporte óptimo de proteínas, minerales, vitaminas y otros micronutrientes. El problema de este tipo de manipulaciones es que es muy incómoda. Muy poca gente está dispuesta a mantenerse en restricción calórica durante periodos largos de la vida. Un reto actual es encontrar manipulaciones que sean más prácticas que la restricción calórica y que nos permitan alargar la vida tanto como ésta.

## Por qué la hembra vive más que el macho. Los estrógenos activan genes de longevidad

En la especie humana, y en muchas otras especies, se ha observado que la hembra vive más que el macho. Esto no es verdad en todas las especies pero sí ciertamente lo es en la nuestra. Hace aproximadamente 10 años nos planteamos en el laboratorio estudiar cuál era la razón por la que este fenómeno ocurre. Ciertamente no se trata de factores sociales. En animales de laboratorio, como la rata Wistar, la hembra también vive más que el macho. La primera observación que hicimos fue que las mitocondrias de la hembra producen mucho menos radicales libres que las del macho. Este efecto beneficioso desaparecía cuando se sometía a las hembras a una ovariectomía. Y de hecho, reaparecía cuando la hembra ovariectomizada se trataba con estrógenos. Por tanto, pudimos identificar los estrógenos como responsables del efecto beneficioso sobre la longevidad del ser hembra (5, 6). Una posibilidad para explicar los efectos beneficiosos de los estrógenos es que estos son antioxidantes. Sin embargo, la cantidad de estrógenos que se administran a una señora después de la menopausia como tratamiento hormonal sustitutivo es del orden de 50 microgramos al día. Esto es unas 8.000 veces menos que la dosis habitual que se administra de una de las más populares vitaminas antioxidantes, esto es la vitamina E cuya dosis habitual es 400 mg/día. De este sencillo cálculo se desprende la idea de que los estrógenos no podían actuar como antioxidantes por su carácter químico sino más bien por su carácter hormonal. Estudios detallados en nuestro laboratorio nos permitieron

demostrar que los estrógenos actúan como antioxidantes porque activan genes de longevidad. De hecho, se unen a receptores estrogénicos  $\beta$  presentes en la membrana de muchas células y mediante la vía de señalización MAP quinasa/NF $\kappa$ B activan la expresión de genes antioxidantes tales como la superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa. La figura 1 (tomada de la referencia 7) nos muestra esta vía de señalización por la cual el estradiol actúa activando los genes antioxidantes de longevidad.

## La menopausia y los genes de longevidad

La menopausia conlleva una obvia disminución en los niveles de estradiol. Esto, que es un proceso normal en todas las mujeres alrededor de los 50 años de edad, lleva asociado una serie de cambios que se manifiestan en situaciones tan dispares como la aparición de sofocos, la disminución de la densidad ósea o la disminución del apetito sexual. En muchos casos, la administración de estradiol evita casi completamente los efectos de la menopausia. Sin embargo, el estradiol (que en mujeres que no hayan sido histerectomizadas nunca debe administrarse sin las correspondientes dosis de progesterona natural) puede presentar algunos efectos indeseables, tales como el aumento de la incidencia de cáncer genital o de mama o el aumento de enfermedades cardiovasculares. En este sentido, la terapia hormonal sustitutiva con estradiol solamente debe hacerse bajo estricto control médico y en determinadas mujeres, no en todas. Sin embargo, existe una importante variedad de sustancias llamadas fitoestrógenos que

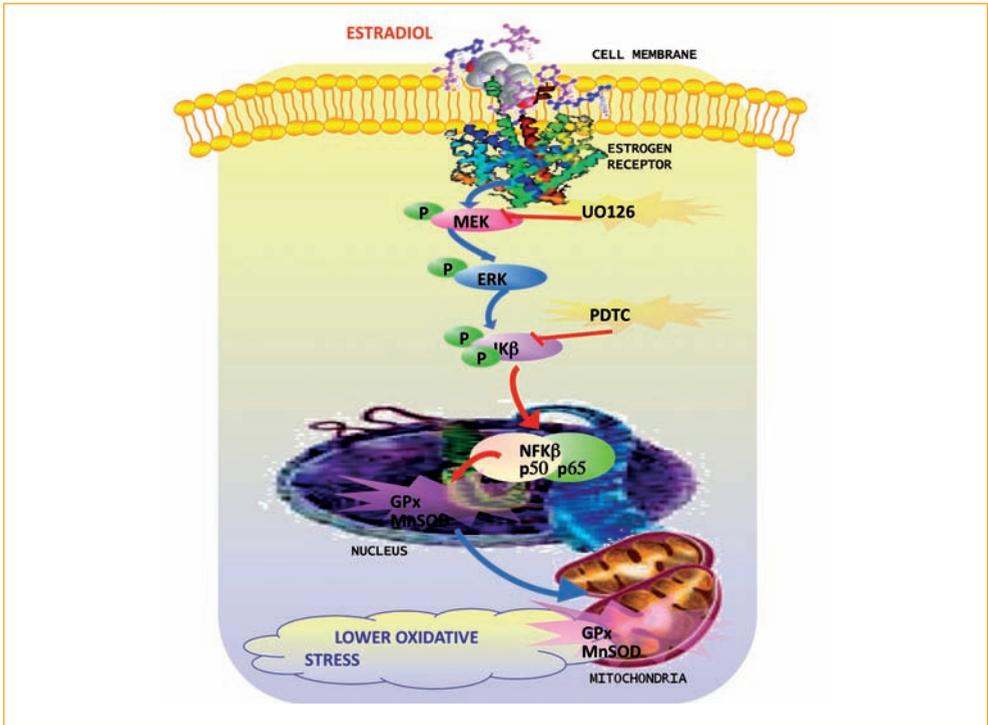


Figura 1. Mecanismo de la acción antioxidante del estradiol (tomada de la referencia 7). El estradiol se une a un receptor de membrana (tipo beta,  $\beta$ ) y desencadena una cascada de señalización que implica a la ERK-MAP quinasa y al  $\text{NF}\kappa\text{B}$ , cuya forma activa entra en el núcleo y estimula la expresión de genes antioxidantes tales como la glutatión peroxidasa y la superóxido dismutasa.

son similares al estradiol (véase figura 2) y que no presentan los efectos indeseables del mismo. Entre las más conocidas está la genisteína y la daizdeína. Ambas sustancias son muy efectivas para evitar, al menos parcialmente, los sofocos que ocurren con la menopausia. Además, nos sirven para evitar en parte la pérdida de masa ósea que se asocia al envejecimiento y, en concreto, a la postmenopausia. No queda claro cuál es el auténtico metabolito activo de genisteína o daizdeína. Hay varios estudios que indican que posiblemente ecul sea la forma activa ya que aquellas personas que tienen aumento del metabolismo microbiano de daizdeína a

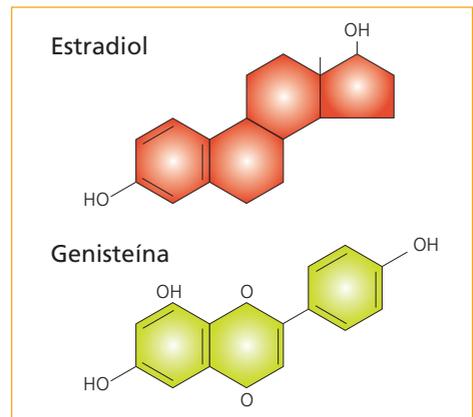


Figura 2. Las estructuras químicas de la genisteína y del estradiol son muy similares. Esto hace que la genisteína se una a receptores estrogénicos (especialmente los  $\beta$ ).

ecuoil (por parte de las bacterias intestinales) presentan una mayor acción beneficiosa de la daizdeína.

Por otra parte, es cierto que podemos administrar fitoestrógenos en forma farmacológica, pero también podemos hacerlo en forma de suplementos dietéticos. El aumento de la cantidad de soja en la dieta tiene, sin duda, un considerable efecto beneficioso para la salud. La *Food and Drug Administration*, en 1999, señaló que las dietas con bajo contenido en grasa saturada y en colesterol y con 25 g de proteína de soja al día pueden reducir el riesgo de enfermedad cardíaca. Así pues, no se trata sólo de administrar fitoestrógenos sino también de la administración de proteínas de soja con los mismos.

En cualquier caso, la administración de soja, y en concreto de fitoestrógenos tales como la genisteína y la daizdeína, no cabe duda que son efectivas para prevenir efectos indeseables de la menopausia. En nuestro laboratorio hemos estudiado cuál es el mecanismo por el que la administración de soja puede activar los genes de longevidad. Esto es objeto del siguiente capítulo.

### **Componentes de la soja activan genes de longevidad y protegen contra la enfermedad de Alzheimer**

Estudios en nuestro laboratorio, y algunos en colaboración con el Prof. Giovanni Mann del Departamento de Fisiología del King's College en Londres, nos permitieron demostrar que la alimentación de animales con dieta rica en soja no sólo activaba algunos genes de longevidad, como

la glutamil cisteinil ligasa o la superóxido dismutasa, sino que también tenía otros efectos fisiológicos beneficiosos, tales como la disminución de la tensión arterial (8). Esa disminución era significativa. En nuestro laboratorio continuamos con estas observaciones y buscamos cuál podría ser el mecanismo de la acción saludable de la genisteína. Nos dimos cuenta que era muy poco probable que la genisteína actuase como un antioxidante dado que las tasas de absorción de la misma son muy bajas. Pensamos entonces que podría ocurrir que la genisteína activase genes de longevidad de un modo similar al que habíamos visto con el estradiol. Experimentos con células en cultivo nos permitieron observar que la genisteína se une a receptores estrogénicos  $\beta$ , los cuales activan la cadena de la señalización de las MAP kinasas, que a su vez activan al factor de transcripción NF $\kappa$ B y éste estimula la síntesis de superóxido dismutasa. Un esquema de esta vía se ve en la figura 3 (tomada de la referencia 9). Se puede observar una gran similitud entre la acción de la genisteína (figura 3) y la del propio estradiol (figura 1). Creemos que los mecanismos de acción de los fitoestrógenos y de los estrógenos son similares. Podemos concluir, por tanto, que existe la posibilidad real de activar genes de longevidad no sólo por los estrógenos, que como hemos visto tiene inconvenientes, sino por los fitoestrógenos, que en realidad presentan muy pocos efectos secundarios desagradables. Es más, la suplementación dietética con alimentos que contengan altas cantidades de soja o de sus productos derivados puede mejorar la salud en la menopausia; por tanto, podemos contemplar una dieta específica para



Figura 3. El mecanismo de la acción antioxidante de la genisteína es muy similar al del estradiol (tomada de la referencia 9). Tal y como se ha indicado en la Figura 1 para el estradiol, la genisteína se une a un receptor de membrana (tipo beta,  $\beta$ ) y desencadena una cascada de señalización que implica a la ERK-MAP kinasa y al  $\text{NF}\kappa\text{B}$ , cuya forma activa entra en el núcleo y estimula la expresión de genes antioxidantes tales como la glutatión peroxidasa y la superóxido dismutasa.

este importante grupo de personas en la cual esta dieta esté especialmente enriquecida en soja y sus derivados.

La soja (y los fitoestrógenos que contiene) no solamente puede ser beneficiosa para poblaciones normales sino que incluso puede retrasar la aparición de los signos precoces de la enfermedad de Alzheimer. Hace ya unos años nos planteamos la posibilidad de que el péptido  $\beta$  amiloide de la enfermedad de Alzheimer causase un aumento en la producción mitocondrial de los radicales libres. La figura 4 muestra que, efectivamente, la producción de radicales libres por mitocondrias

de machos aumenta en presencia del péptido  $\beta$  amiloide, no siendo así en el caso de las hembras. Esto es paradójico dado que la incidencia de la enfermedad de Alzheimer es mayor en la mujer que en el hombre. Sin embargo, esta aparente paradoja se resolvió cuando medimos el efecto del péptido  $\beta$  amiloide sobre la producción de radicales libres por mitocondrias de animales hembras pero viejas. En este caso, la producción de radicales libres era tan grande como en el macho o incluso superior (10). Nos planteamos entonces si la genisteína o el propio estradiol podrían evitar el aumento de radicales libres asociados a la proteína  $\beta$  amiloide e incuba-

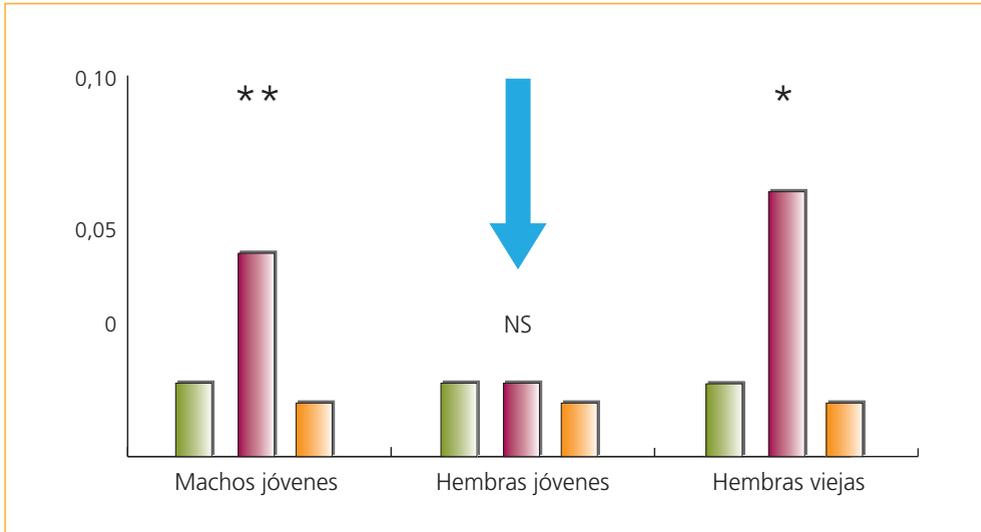


Figura 4. El péptido  $\beta$  amiloide de la enfermedad de Alzheimer estimula la producción mitocondrial de radicales libres. Cuando se incuban mitocondrias con péptido  $\beta$  amiloide (1- 42, barras rojas) se estimula la producción de radicales si las mitocondrias provienen de machos o de hembras viejas, pero no cuando vienen de hembras jóvenes. El péptido  $\beta$  amiloide inverso (42- 1, barras verdes) no produce ningún efecto.

mos neuronas de ratón cultivadas en presencia del péptido  $\beta$  amiloide y estradiol o genisteína. La figura 5a muestra que tanto el estradiol como la genisteína son

importantes para la prevención de la muerte neuronal asociada a la incubación con péptido  $\beta$  amiloide. La figura 5b (tomada de la referencia 11) muestra que

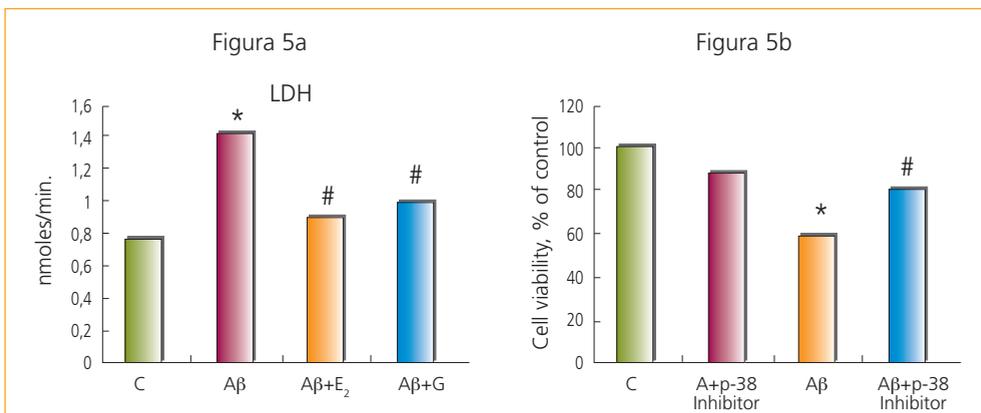


Figura 5. El estradiol (E2) o la genisteína (G) protegen contra muerte neuronal causada por péptido  $\beta$  amiloide (panel a). Los efectos son mediados por la MAP quinasa p38 (panel b). Cuando se incuban neuronas de rata con péptido  $\beta$  amiloide (1- 42) éste causa muerte neuronal. La preincubación con estradiol o genisteína protege contra el efecto deletéreo péptido  $\beta$  amiloide. En el panel b se muestra que los efectos dañinos del péptido  $\beta$  amiloide están mediados por p38 (figura tomada de la referencia 11).

la producción de radicales libres mediada por péptido  $\beta$  amiloide activa la fosforilación de la MAP kinasa p38, la cual desencadena una serie de reacciones que llevan a la muerte celular. Estos efectos son parcialmente evitados por la incubación de las neuronas con estradiol o genisteína.

## Conclusiones

De lo anteriormente expuesto podemos concluir una serie de hechos que pueden tener repercusión en la práctica. En primer lugar, es importante intentar encontrar genes de longevidad, es decir, genes cuya manipulación nos alargue la vida. Una consecuencia inmediata de lo anterior es que debemos intentar investigar cómo activarlos por medios fisiológicos, nutricionales o farmacológicos. Es notable constatar que los estrógenos, y algunos componentes de soja, activan estos genes de longevidad. Más aún, los componentes de la soja no solamente activan los genes de longevidad en personas normales, sino que hemos podido demostrar que protegen eficazmente contra la toxicidad del péptido  $\beta$  amiloide de la enfermedad de Alzheimer. La terapéutica hormonal sustitutiva tanto con estrógenos como con fitoestrógenos debe iniciarse inmediatamente después de la menopausia. Muchos de sus efectos beneficiosos se pierden si uno espera probablemente más de 1 año después del comienzo de la menopausia. Finalmente, hacen falta estudios controlados para determinar el efecto de la alimentación con soja sobre la longevidad y sobre la prevención de enfermedades asociadas al envejecimiento. No se trata sólo de mejorar la longevidad sino también de mejorar y prevenir las enfer-

medades asociadas al envejecimiento mediante la administración de fitoestrógenos tanto en forma farmacológica (como suplementos) como en forma nutricional, es decir, mediante la administración de alimentos funcionales ricos en soja y en sus componentes específicos.

## Bibliografía

1. Sinclair DA, Guarente L. Unlocking the Secrets of Longevity Genes, *Scientific American*. 2006; 16:68-75.
2. Orr WC, Sohal RS. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*, *Science*. 1994 ; 263(5150):1.128-30.
3. Matheu A, Maraver A, Klatt P, Flores I, García-Cao I, Borrás C, Flores JM, Viña J, Blasco MA, Serrano M. Delayed aging through damage protection by the Arf/p53 pathway *Nature*. 2007; 448:375-9.
4. Tomás-Loba A, Flores I, Fernández-Marcos PJ, Cayuela ML, Maraver A, Tejera A, Borrás C, Matheu A, Klatt P, Flores JM, Viña J, Serrano M, Blasco MA. Telomerase reverse transcriptase delays aging in cancer-resistant mice *Cell*. 2008; 14; 135(4):609-22.
5. Borrás C, Sastre J, García-Sala D, Lloret A, Pallardó FV, Viña J. Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males. *Free Radic Biol Med*. 2003; 34(5):546-52.
6. Viña J, Borrás C, Gambini J, Sastre J, Pallardó FV. Why females live longer than males? Importance of the upregulation of longevity-associated genes by oestrogenic compounds. *FEBS Lett*. 2005; 9;579(12): 2.541-5.
7. Borrás C, Gambini J, Gomez-Cabrera MC, Sastre J, Pallardo FV, Mann GE, Vina J. 17beta-oestradiol up-regulates longevity-related, antioxidant enzyme expresión via the ERK1 and ERK2 [MAPK]/NFkappaB cascade. *Aging Cell*. 2005; 4:113-8.

8. Mahn K, Borrás C, Knock GA, Taylor P, Khan IY, Sugden D, Poston L, Ward JP, Sharpe RM, Viña J, Aaronson PI, Mann GE. Dietary soy isoflavone induced increases in antioxidant and eNOS gene expression lead to improved endothelial function and reduced blood pressure in vivo. *FASEB J.* 2005; 19(12):1.755-7.
9. Borrás C, Gambini J, Gómez-Cabrera MC, Sastre J, Pallardó FV, Mann GE, Viña J. Genistein, a soy isoflavone, up-regulates expression of antioxidant genes: involvement of estrogen receptors, ERK1/2, and NFkB *The FASEB Journal.* 2006; 20(12):2.136-8.
10. Lloret A, Buj J, Badia MC, Sastre J, Morera J, Viña J. Obstructive sleep apnea: arterial oxygen desaturation coincides with increases in systemic oxidative stress markers measured with continuous monitoring *Free Radical Biology and Medicine.* 2007; 42:893-4.
11. Vallés SL, Borrás C, Gambini J, Furriol J, Ortega A, Sastre J, Pallardó FV, Viña J. Oestradiol or genistein rescues neurons from amyloid beta-induced cell death by inhibiting activation of p38 *Aging Cell.* 2008; 7(1):112-8.

**JORNADA**  
SOBRE  
**NUTRIGENÓMICA Y  
METABOLÓMICA  
NUTRICIONAL**  
28 DE ABRIL DE 2010



# Nutrición personalizada y nutrigenómica

**Estíbaliz Goyenechea Soto.** *Departamento de Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología. Universidad de Navarra, Pamplona. Instituto BioDonostia. Hospital Donostia. San Sebastián-Donostia.*

**Itziar Abete Goñi, M.<sup>a</sup> Ángeles Zulet Alzorritz y J. Alfredo Martínez Hernández.** *Departamento de Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología. Universidad de Navarra, Pamplona.*

## Resumen

La nutrición personalizada es un elemento importante para una alimentación saludable dadas las características fenotípicas y genotípicas singulares de cada individuo. Esta apreciación no es sólo relevante para personas con errores congénitos del metabolismo, intolerancias, alergias alimentarias, etc., sino también en el contexto de una alimentación destinada tanto al tratamiento de enfermedades específicas como al mantenimiento de la homeostasis y la salud en el organismo.

Adicionalmente, algunas patologías como la obesidad y ciertas complicaciones asociadas, como la enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2, cáncer, etc., están causadas por la interacción de rasgos genotípicos y de factores exógenos, tales como agentes ambientales o el estilo de vida. Algunas situaciones de enfermedad, no presentan un patrón hereditario y la diversidad de factores etiológicos que interacciona con el genotipo dificulta la estimación del riesgo, el diagnóstico y el tratamiento basado en criterios de nutrición personalizada.

En los últimos años ha surgido la genética nutricional, que se fundamenta en el estudio de las interacciones entre genes y nutrientes. Así aparecen la nutrigenética y

la nutrigenómica, que se basan en el conocimiento de las variantes genéticas que afectan al metabolismo y destino bioquímico de los nutrientes y el impacto de la nutrición sobre la expresión génica, respectivamente. Un objetivo de la nutrición molecular consiste en lograr una “nutrición individualizada” basada en las características genéticas propias del paciente, que logre mantener la salud y prevenir, mitigar o revertir la enfermedad en función de las características singulares de cada persona (Razquin y col., 2011).

## Introducción

La alimentación del ser humano ha evolucionado notablemente desde que el hombre se encuentra sobre la tierra, sin que aparentemente su componente genético haya sido modificado sustancialmente (Eaton, 2006). De hecho, el ser humano sólo presenta un 1,6% de variación en cuanto a la base genética respecto a primates evolucionados. En efecto, en los seres humanos variaciones del 0,1% en la herencia genética son responsables de las diferencias en las manifestaciones externas (pelo y color de piel, altura, peso, etc.) y una susceptibilidad individual diferenciada para la enfermedad, y determinadas situaciones nutricionales (Novo-Villaverde, 2007).

El conjunto de caracteres observables en un individuo (fenotipo) es el resultado de la interacción de la información contenida en los genes (genotipo) con factores externos como la dieta, actividad física, etc. (figura 1). En este contexto, diversos genes del genoma humano codifican proteínas o péptidos que median procesos nutricionales (Marti y col., 2008). Las múltiples interacciones entre la nutrición y el genoma contribuyen a la regulación integrada de la homeostasis del organismo.

Los avances metodológicos en biología molecular, las tecnologías “ómicas”, han facilitado el estudio de enfermedades genéticas y sus interacciones con el ambiente. El uso de nuevas técnicas de análisis genético, el desarrollo de las ciencias de la alimentación y la nutrición, jun-

to con el conocimiento de la secuencia del genoma humano han permitido el desarrollo de nuevas disciplinas en nutrición molecular: la nutrigenómica y la nutrigenética (Pisabarro, 2006). La nutrigenética engloba el análisis retrospectivo de las variantes genéticas o polimorfismos de los individuos que condicionan la respuesta fenotípica a los nutrientes (Gillies, 2003). Los individuos responden de manera diferente a la misma dieta debido a su herencia/predisposición genética. Un ejemplo claro es la variabilidad interindividual en los niveles de colesterol en plasma y la presión arterial de sujetos que comparten la misma dieta. El término de nutrigenómica hace referencia al análisis prospectivo de las diferencias inducidas por los nutrientes con respecto a la regulación de la expresión de genes (figura 1), como, por ejem-

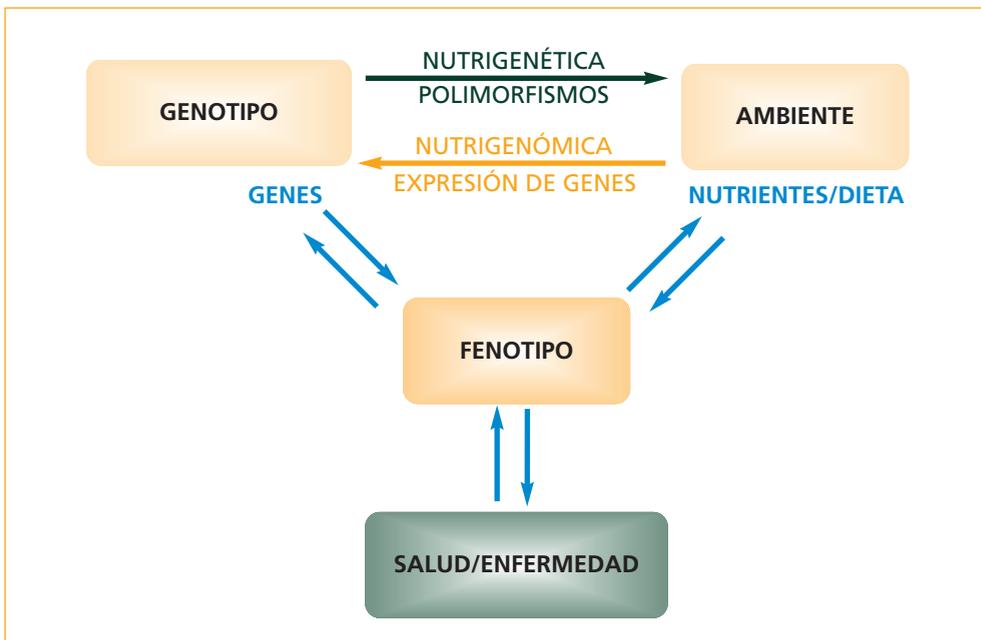


Figura 1. Nutrición personalizada, nutrigenética y nutrigenómica. Las relaciones entre los genes, el ambiente y desarrollo de la enfermedad son dinámicas.

plo, el efecto supresor que ejercen los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) sobre la expresión génica de la enzima ácido graso sintasa (Marti y col., 2005). El control de la expresión génica por parte de los nutrientes puede realizarse sobre los procesos de transcripción (ARN a ARN), translocación (paso de RNA del núcleo al citoplasma) y traducción (ARN a proteína), así como sobre la síntesis y estabilidad del ARN y procesos postraduccionales. Los mecanismos íntimos de regulación de la expresión génica por parte de los nutrientes tienen lugar especialmente sobre la síntesis de factores de transcripción y su unión a ADN/ARN (Ordovas y Mooser, 2004). El examen de las respuestas individuales a la alimentación se está llevando a cabo con las mismas herramientas y métodos usados en farmacogenómica (análisis de SNP, perfiles de expresión génica, proteómica, metabolómica y bioinformática) y biología de sistemas (Cortés-Theulaz y col., 2005).

En definitiva, el progreso de la nutrigenómica y nutrigenética viene ligado a la futura utilización de dietas personalizadas, que se fundamenten en el conocimiento de los requerimientos nutricionales dependientes del genotipo individual, para prevenir, mitigar o curar las enfermedades crónicas, como es el caso de la obesidad, la diabetes, la enfermedad cardiovascular y el cáncer, entre otras (Marti y col., 2005). La nutrición en diferentes errores congénitos del metabolismo (fenilcetonuria, lipoidosis, intolerancia a la lactosa, etc.) también va a beneficiarse de los avances de la genómica nutricional, así como en situaciones de hipotiroidismo, insuficiencia renal crónica, etc.

## **Nutrigenética: respuesta metabólica a la dieta condicionada por las variantes genéticas**

Un aspecto fundamental del enfoque genético de la enfermedad es el reconocimiento de la variación humana: su naturaleza y alcance, el origen y mantenimiento, su distribución entre las familias y poblaciones, las interacciones con el ambiente, sobre todo la dieta y el ejercicio, y las consecuencias para el desarrollo y la homeostasis del organismo (Panagiotou y Nielsen, 2009).

Las enfermedades crónicas como la cardiopatía coronaria, la hipertensión, la diabetes, el cáncer y la obesidad son de origen poligénico y multifactorial. En este sentido, diferentes genes y polimorfismos genéticos han sido investigados por su participación en distintas rutas metabólicas y funciones fisiológicas, junto a las posibles implicaciones en la susceptibilidad o resistencia a algunas enfermedades, que pueden conferir ciertos genes o mutaciones de los mismos en función de la dieta (Loktionov, 2003). Por otra parte, diversos nutrientes (glucosa, aminoácidos, ácidos grasos, minerales y vitaminas) participan en los procesos de expresión génica, de forma directa o indirecta, a través de diversos receptores, vías de señalización, factores de transcripción, etc. La variación genética y las relaciones genes-nutrientes también son importantes en el metabolismo de los fármacos y las reacciones adversas a los medicamentos (Vella y Camilleri, 2008).

Las interacciones entre genes y nutrientes pueden explorarse cuando se dispone de marcadores genéticos y medidas adecua-

das para valorar el estado nutricional. Estas interacciones pueden evaluarse siguiendo diversas estrategias. Primeramente, la valoración de la expresión de un gen en poblaciones de diferentes bases étnicas y culturales (Chandalia y Abate, 2007). Un segundo método consiste en comparar los efectos de mutaciones en un gen entre subgrupos de una misma población (Goyenechea y col., 2007), categorizados en función de diversas variables (edad, sexo, índices fisiopatológicos, etc.). Un tercer método consiste en evaluar la respuesta a una intervención nutricional entre individuos con diferente genotipo para un gen concreto (Goyenechea y col., 2006). Una dificultad añadida que conllevan estos estudios de asociación es que los polimorfismos deben cumplir varias características para que su implicación sea considerada de relevancia en nutrigenómica. Así, el polimorfismo debe presentarse con cierta prevalencia en la población general, debe modificar o regular proteínas que ocupen posiciones relevantes en rutas metabólicas (pasos limitantes, etc.), además de disponer de marcadores relacionados con el efecto clínico (Marti y col., 2005; Yamada y col., 2001).

Un concepto básico es que la progresión desde un fenotipo sano a un fenotipo de disfunción crónica puede explicarse por cambios en la expresión genética o por diferencias en las actividades de proteínas y enzimas, controlados genéticamente (Marti y col., 2005). El fenotipo depende de la interacción del genotipo (DNA) con factores dependientes de la dieta y actividad física, etc. (figura 1). En este contexto, se conocen diversas enfermedades monogénicas (causadas por una única variación genética) que pueden ser trata-

das y detectadas a través de ciertos nutrientes, como es el caso de la fenilcetonuria y la galactosemia, entre otras. Así, suplementos dietéticos ricos en tirosina y bajos en fenilalanina o dietas libres de galactosa se emplean con éxito en el tratamiento de la fenilcetonuria tipo 1 y la galactosemia, respectivamente (Gillies, 2003). Más reciente es el descubrimiento del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), que viene modulado por la ingesta de folato. Alteraciones en este gen producen un aumento de la homocisteína plasmática, que es un importante factor de riesgo vascular. La detección en grupos de riesgo de un polimorfismo con alta prevalencia en este gen permite prevenir eventos cardiovasculares, mientras que la simple suplementación con folato y vitamina B<sub>12</sub> puede corregir los niveles de este marcador de riesgo (Nishio y col., 2008).

La intervención dietética directa para la prevención o el tratamiento de las enfermedades crónicas poligénicas, como es el caso de la obesidad, diabetes tipo 2 y demás comorbilidades, es inherentemente más difícil, ya que normalmente múltiples genes interactúan entre sí y con las variables ambientales contribuyendo a la etiología de la enfermedad (Marti y col., 2008; Martínez y col., 2008). La identificación de los genes que contribuyen mayoritariamente al inicio o progresión de estas patologías y comprender su regulación a través de los componentes de la dieta es un paso necesario y objetivo primordial de la genética nutricional. Diversos estudios de asociación de la dieta con genes candidatos de enfermedad parecen mostrar la idoneidad de esta estrategia con respecto a diversas enfermedades

(Uusitupa, 2005). De esta forma, el conocimiento de las variantes genéticas, así como la expresión de distintos genes implicados en las distintas patologías permitirá predecir y desarrollar tratamientos específicos para cada alteración (Marti y col., 2005).

Un ejemplo evidente de las interacciones entre genotipo y dieta en enfermedades crónicas poligénicas es el caso de la hipercolesterolemia y la diabetes tipo 2. La respuesta a la dieta de los niveles de colesterol plasmáticos es genotipo-dependiente (López-Miranda y col., 1994). De hecho, varios estudios han mostrado cómo la mutación  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$  del gen que codifica para la apolipoproteína E modula los niveles de colesterol en presencia de distintos tipos de dietas (distribución de macronutrientes o alimentos), y condicionadas a su vez por la presencia de complicaciones asociadas, como son la obesidad, el hipotiroidismo o la diabetes (Mahley y col., 1991; Cobb y col., 1992). En el caso de la diabetes, mientras unos pacientes controlan los síntomas de la patología incrementando la actividad física y reduciendo el consumo de calorías, otros requieren un tratamiento farmacológico personalizado. En los sujetos que responden satisfactoriamente a las modificaciones conductuales, la expresión de la información genómica se modifica por el cambio de las variables del estilo de vida tales como la dieta y el ejercicio (Arab, 2004).

Sin embargo, muchas enfermedades crónicas no muestran la plasticidad del fenotipo observada en algunos casos de diabetes tipo 2, es decir, los síntomas no son reversibles después de algún evento iniciador (Marti y col., 2005). En la

actualidad, la epigenética estudia los mecanismos celulares que afectan la expresión de genes sin cambiar la secuencia del ADN. Las marcas epigenéticas incluyen procesos tales como la remodelación de la cromatina, la metilación del DNA, etc., los cuales pueden ser heredados y modificados durante toda la vida (Campion y col., 2009). Las modificaciones epigenéticas durante periodos críticos al principio del desarrollo, como la embriogénesis, tienen un efecto mayor sobre el fenotipo. La exposición fetal en los primeros años de vida se ha asociado a numerosos resultados en la salud, incluida la obesidad. Los cambios en las marcas y envoltura del ADN pueden explicar la influencia del medio ambiente sobre la expresión génica durante toda la vida de una persona e incluso entre generaciones (Martin y Zhang, 2007). Así, la identificación de aquellos individuos que puedan presentar cambios en el perfil de metilación de determinados genes a edades tempranas ayudaría a predecir la futura susceptibilidad de los mismos al desarrollo de obesidad, así como a prevenir y desarrollar nuevos enfoques terapéuticos personalizados (Campion y col., 2009).

### **Aplicaciones de la nutrigenética en la obesidad**

La nutrigenética busca el conocimiento de la influencia de la base genética (presencia de polimorfismos) de un individuo sobre la respuesta coordinada a una determinada dieta. Esta rama de la nutrición trata de identificar las causas de las diferencias o variabilidad de las distintas personas respecto al metabolismo de los componentes de los alimentos (Marti y

col., 2005). Por tanto, la nutrigenética supone un papel fundamental en el estudio del inicio y progresión del desequilibrio energético, que cursa con exceso de peso corporal, concurriendo en la alteración metabólica conocida como obesidad (Arkadianos y col., 2007).

El componente genético de la obesidad se comenzó a valorar en las primeras décadas del siglo xx, pero únicamente en los últimos años se ha empezado a disponer de datos objetivos sobre los posibles genes involucrados en el desarrollo de la misma (Rankinen y col., 2006). El trazado del mapa genético de la obesidad supone identificar los *loci* donde residen los distintos caracteres involucrados en la etiología de la obesidad (Martínez y col., 2007). Las investigaciones realizadas con enfermedades de transmisión genética mendeliana con manifestación clínica de obesidad, con sistemas modelo de animales de experimentación, barridos genéticos inespecíficos, estudios de asociación y ligamiento han permitido identificar más de 600 genes y marcadores genéticos potencialmente implicados en la obesidad, donde todos los cromosomas del genoma humano contienen *loci* relacionados con el exceso de peso corporal, excepto el cromosoma Y (Rankinen y col., 2006). De ahí que se sugiera que entre el 40-70% de la variación en los fenotipos de la obesidad está mediada genéticamente (Hebebrand y col., 2001), sin olvidarse de la importancia de los factores exógenos, tales como el ambiente o el estilo de vida.

Hay casos de obesidad monogénica en los que una mutación en un único gen puede ser responsable de la obesidad del sujeto (Tao, 2010), como sucede con los genes de la leptina y de su receptor, la

proopiomelanocortina (POMC) y el receptor de melanocortina 4 (MC4R). Sin embargo, en la mayoría de los casos, la etiología de la obesidad es de origen poligénico o multifactorial, involucrando a diversos tipos de genes (Farooqi y col., 2000; Rankinen y col., 2006). En la literatura científica se pueden encontrar múltiples genes relacionados con la homeostasis energética (Rankinen y col., 2006), por su participación en la regulación del apetito (leptina, ghrelina, receptores de melanocortina, de NPY), la termogénesis y el metabolismo energético (ADRB2, ADRB3, UCP's...), así como en diferentes procesos, incluyendo la adipogénesis (PPAR, RXR, adiponectina...).

En este contexto, los avances en nutrigenética están permitiendo identificar subgrupos de riesgo de obesidad, así como de sus alteraciones metabólicas asociadas, como la insulinorresistencia, la diabetes tipo 2 y el síndrome metabólico (Korner y col., 2008). Ya es posible identificar polimorfismos que predisponen a obesidad ante una nutrición no saludable (Pisabarro y col., 2004). El riesgo de padecer comorbilidades puede disminuirse modificando la ingesta nutricional fundamentándose en el conocimiento del genotipo del individuo obeso (Elliot y Ong, 2002). En este sentido, un estudio reciente confirmaba la asociación entre el peso corporal y el polimorfismo rs9939609 de FTO (Razquin y col., 2010). Sin embargo, aunque los portadores del alelo A se asociaban con un mayor peso corporal inicial, 3 años después del seguimiento de una dieta mediterránea registraron una menor ganancia de peso corporal con respecto a los sujetos no portadores de este alelo (Razquin y col., 2010).

Por otro lado, los ejemplos de genes que participan en la regulación del metabolismo energético y cuya interacción con la nutrición se ha demostrado tanto en estudios de asociación como de intervención es amplia e incluye al PPAR, los receptores adrenérgicos, las proteínas desacoplantes, entre otros muchos genes (Ochoa y col., 2007; De Luis y col., 2008). Entre los muchos estudios, cabe destacar que los individuos portadores de la mutación Gln27Glu del gen ADRB2 o del polimorfismo Pro12Ala del gen PPARG2 que presentan además una ingesta elevada de carbohidratos poseen mayor riesgo relativo de obesidad (Marti y col., 2002; Martínez y col., 2003). Asimismo, se han descrito estudios longitudinales de intervención nutricional en los que la respuesta a la regulación del peso corporal o la evolución de ciertas alteraciones metabólicas viene condicionada por el genotipo de los individuos obesos (Goyenechea y col., 2006; Sesti y col., 2005; Miniñan y col., 2007). A su vez, otros autores encuentran interacciones entre factores genéticos y ambientales, tales como la actividad física, en el riesgo de obesidad (Shiwaku y col., 2003).

Por tanto, el desarrollo de la genética nutricional en los últimos años está permitiendo conocer la interacción de la dieta con la base genética, junto con los mecanismos implicados en la expresión de la información génica y su trascendencia en la obesidad y otras enfermedades metabólicas. De esta manera, los avances científicos están permitiendo acercarse a la nutrición individualizada, basándose en las características genéticas de cada paciente obeso, que logre prevenir, mitigar o revertir el exceso de peso corporal.

## **Nutrigenómica: efecto de los nutrientes sobre la expresión génica**

La nutrigenómica estudia la influencia de la nutrición/nutrientes sobre la función genómica. Los nutrientes pueden considerarse señales de la dieta, que son detectados por los sistemas celulares, e influyen en la expresión de genes y proteínas y, como consecuencia, en la regulación metabólica. La nutrigenómica analiza la influencia de la dieta sobre células específicas, tejidos y organismos, y su influencia sobre homeostasis celular. Por otro lado, identifica genes que influyen en el riesgo de enfermedades relacionadas con la dieta en una escala genómica y para comprender los mecanismos que subyacen a esta predisposición genética (Müller, 2003). Concretamente, engloba a todos aquellos cambios fisiológicos inducidos por la nutrición sobre el genoma, proteoma y metaboloma (Mutch y col., 2005), orientados en gran medida a la descripción de biomarcadores transcripctómicos, proteómicos y metabolómicos orientados a la prevención de la enfermedad (figura 2).

En los últimos años han aumentado considerablemente las aplicaciones de conceptos de biología molecular a los estudios de los componentes de los alimentos y nutrientes esenciales, como factores involucrados en el control de la expresión génica (Rucker y Tinker, 1986; Pisabarro, 2006). En términos de enfermedades crónicas, los efectos de colesterol de la dieta y los ácidos grasos son de especial importancia. El colesterol dietético ejerce una inhibición profunda sobre la transcripción del gen de la  $\beta$ -hidroxi-

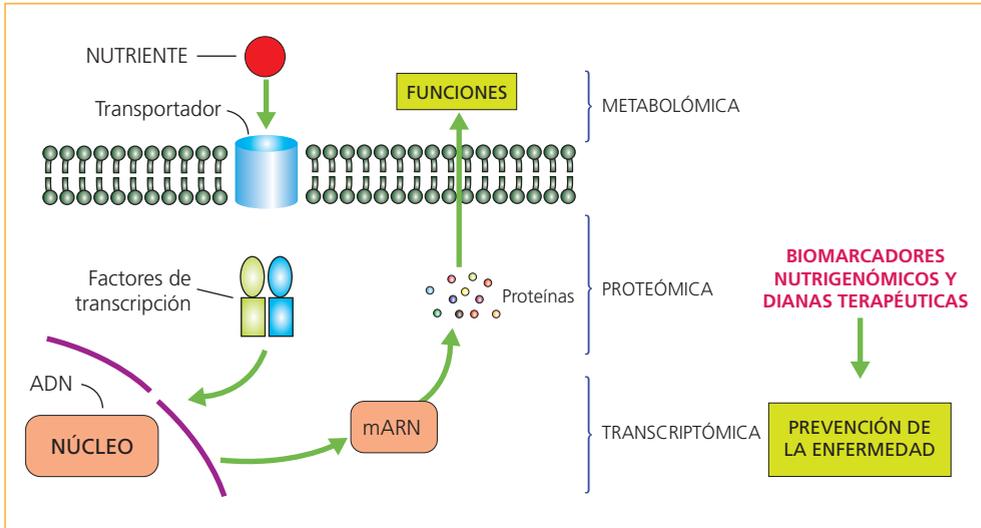


Figura 2. Nutrición molecular y nutrigenómica. Los sistemas biológicos nutricionales engloban la identificación de biomarcadores transcriptómicos, proteómicos y metabólicos. Estos biomarcadores pretenden lograr la intervención dietética temprana y personalizada para revertir o prevenir la aparición de la enfermedad relacionada con la dieta.

metil-glutaril (HMG)-CoA reductasa (Simopolous, 2010). Los ácidos poliinsaturados (PUFA) procedentes de la dieta, pueden suprimir la expresión hepática de proteínas lipogénicas y dependiendo del grado de instauración de los mismos (Pérez-Echarri y col., 2009). Así, el ácido eicosapentanoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) en forma de aceites de pescado son más eficientes que el ácido araquidónico (AA) en la modulación de la exposición génica (Clarke y Jump, 1993). Los ácidos omega-3 reducen los niveles de expresión del gen del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y de la interleuquina 1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), indicando así una regulación transcripcional (Kaminski y col., 1993; Simopoulus, 1996). Asimismo, un estudio reciente observó que el seguimiento a corto plazo de una dieta tradicional mediterránea modulaba la expresión de determinados genes involu-

crados en procesos aterogénicos e inflamatorios (Llorente-Cortes y col., 2010).

En un estudio clínico prospectivo (GEMINAL) en el que se analizaron la modulación de la expresión génica tras intervención nutricional (dieta baja en grasa, alta en vegetales, etc.) y de estilo de vida (técnicas de control de estrés, ejercicio físico y apoyo psicológico) en pacientes con cáncer de próstata, se identificaron cambios en la expresión de genes relacionados con la tumorigénesis, incluyendo el metabolismo proteico y la fosforilación de las proteínas, sugiriendo que los cambios dietéticos y ambientales modulan la expresión génica prostática (Carter y col., 2002).

El desarrollo y la progresión del síndrome metabólico vienen condicionados por la interacción de la dieta, actividad física y la predisposición genética (Lakka y col., 2002).

Una de las grandes cuestiones es investigar el papel de estas interacciones y su influencia sobre la expresión génica. Un estudio reciente analiza la influencia de dos dietas con distinto índice glicémico en la expresión del tejido adiposo subcutáneo de pacientes con síndrome metabólico, indicando que las modificaciones de la dieta modulan la expresión génica independientemente de la pérdida de peso (Kallio y col., 2007). Otro estudio analiza la influencia de la variación del gen que codifica para el gen asociado a la masa grasa y la obesidad (FTO) en la obesidad, diabetes tipo II y complicaciones asociadas (Andreasen y col., 2008), describiendo que la actividad física parece acentuar el efecto de la variación rs9939609 en la acumulación de grasa corporal, interacción observada también al describir el efecto sobre la sensibilidad a la insulina.

Varios autores han analizado la influencia de la restricción energética sobre los cambios de expresión génica del tejido adiposo (Dahlman y col., 2005). Este mismo trabajo concluyó que la distribución de macronutrientes tiene un papel secundario en los cambios en la expresión génica del adipocito, y que la modificación más llamativa tras la restricción energética es la reducción de la expresión de genes que regulan la producción de PUFA. Otro trabajo describió que la regulación de la expresión es independiente del contenido de grasa de la dieta, pero está afectado por la restricción calórica (Vigerie y col., 2005).

Investigaciones de nuestro grupo han descrito cómo los niveles de expresión de genes relacionados con las vías de la inflamación y el estrés oxidativo se ven modulados tras la pérdida de peso en pacientes obesos (Crujeiras y col., 2008a). Estos

estudios han sido realizados en células mononucleares de sangre periférica (PBMC), ya que pueden constituir una buena fuente de ARNm. Así, el análisis de los cambios inducidos por diversos nutrientes o por intervenciones dietéticas sobre el perfil de expresión génica en PBMC (Aljada y col., 2006) es de gran ayuda para comprender los mecanismos implicados en la regulación del ARNm (Ghanim y col., 2004), así como poder personalizar una intervención en función de las características metabólicas de cada paciente obeso. En este sentido, los niveles de expresión de genes proinflamatorios, como son los relacionados con la vía de señalización  $TNF\alpha/NF\kappa B$ , son modulados, además de por la restricción energética, por la posterior evolución del mantenimiento del peso corporal (Goyenechea y col., 2009). Asimismo, la evaluación de la expresión de estos genes permite comprender los mecanismos implicados en dichos procesos, así como facilitar la descripción de biomarcadores transcripcionales en el contexto de la regulación del peso corporal y tratamiento nutricional, como es el caso de los genes que codifican para las sirtuinas,  $TNF\alpha$  y RIPK3, entre otros (Crujeiras y col., 2008b; Goyenechea y col., 2008), así como en la respuesta a la exposición de nutrientes (Van Erk y col., 2006) y en relación a las patologías asociadas al exceso de peso corporal (Aljada y col., 2006; Zhao y col., 2007), sugiriendo a este tipo de muestras como candidatas para llevar a cabo estudios de nutrigenómica.

## Conclusiones

El control y expresión del genoma humano es sensible al entorno nutricional y

otros procesos metabólicos, de forma que los componentes de la dieta pueden alterar la expresión génica directa o indirectamente (Daniel, 2002). Los campos de la nutrigenética y nutrigenómica surgieron con distintas aproximaciones para caracterizar la interacción de la dieta con los genes, con el objetivo común de lograr una nutrición personalizada que lograra optimizar la salud humana.

La herencia genética participa activamente en la regulación del apetito, adipogénesis, metabolismo lipídico, proteico e hidrocarbonado, termogénesis y diferenciación celular, de ahí su impacto sobre la homeostasis energética y en la composición corporal (Bell y col., 2005). Además, la homeostasis corporal viene regulada por diversos genes, que participan en el control de las rutas metabólicas de la ingesta y gasto energético (Marti y col., 2004a). Asimismo, diversos factores genéticos podrían estar involucrados en la respuesta diferente a la restricción energética y composición de macronutrientes de la dieta (Moreno-Aliaga y col., 2005).

En ese contexto, un número de estudios de asociación de la dieta con genes candidatos de enfermedad parece mostrar la idoneidad de este análisis con respecto a diversas enfermedades (Uusitupa, 2005; De Luis y col., 2007a; Marti y col., 2008). La intervención dietética directa para la prevención o el tratamiento de la enfermedad es inherentemente más difícil, ya que múltiples genes interactúan entre sí y con las variables ambientales, contribuyendo a la etiología de la misma. Sin embargo, el conocimiento de las variantes genéticas implicadas en las distintas enfermedades, así como el conocimiento de sus interacciones con el medio (die-

ta y ejercicio físico), podrá facilitar el desarrollo de tratamientos específicos (Marti y col., 2005). Por tanto, el objetivo central de muchos grupos de investigación consiste en el estudio de genes candidatos involucrados en el control de la homeostasis o interacciones con los nutrientes de la dieta, para poder diseñar una intervención dietética personalizada. Así, el conocimiento de los requerimientos nutricionales asociados al genotipo del paciente podrá prevenir, mitigar o tratar la enfermedad, como es el caso de la obesidad y otras de etiología genética (Marti y col., 2008) y facilitar la prescripción de dietas individualizadas para distintas alteraciones del metabolismo (errores congénitos, intolerancias, etc.) y patologías crónicas (Steemburgo y col., 2009).

## **Bibliografía recomendada**

Andreasen CH, Stender-Petersen KL, Mogensen MS, Torekov SS, Wegner L, Andersen G, Nielsen AL, Albrechtsen A, Borch-Johnsen K, Rasmussen SS, Clausen JO, Sandbaek A, Lauritzen T, Hansen L, Jørgensen T, Pedersen O, Hansen T. Low physical activity accentuates the effect of the FTO rs9939609 polymorphism on body fat accumulation. *Diabetes*. 2008; 57:95-101.

Arab L. Individualized nutritional recommendations: do we have the measurements needed to assess risk and make dietary recommendations? *Proc Nutr Soc*. 2004; 63:167-72.

Arkadianos I, Valdes AM, Marinos E, Florou A, Gill RD, Grimaldi KA. Improved weight management using genetic information to personalize a calorie controlled diet. *Nutr J*. 2007; 6:29.

Campión J, Milagro FI, Martínez JA. Individuality and epigenetics in obesity. *Obes Rev*. 2009; 10:383-92.

- Carter HB, Walsh PC, Landis P, Epstein JI. Expectant management of nonpalpable prostate cancer with curative intent: preliminary results. *J Urol* 2002; 167:1.231-4.
- Chandalia M, Abate N. Metabolic complications of obesity: inflated or inflamed? *J Diabetes Complications*. 2007; 21:128-36.
- Clarke SD, Jump DB. Polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Lipids*. 1996; 31:7-11.
- Cobb MM, Teitelbaum H, Risch N, Jekel J, Ostfeld A. Influence of dietary fat, apolipoprotein E phenotype, and sex on plasma lipoprotein levels. *Circulation*. 1992; 86:849-57.
- Corthesy-Theulaz I, den Dunnen JT, Ferre P, Geurts JM, Muller M, van Belzen N, et al. Nutrigenomics: the impact of biomics technology on nutrition research. *Ann Nutr Metab*. 2005; 49:355-65.
- Crujeiras AB, Parra D, Goyenechea E, Martínez JA. Sirtuin gene expression in human mononuclear cells is modulated by caloric restriction. *Eur J Clin Invest*. 2008; 38:672-8.
- Crujeiras AB, Parra D, Milagro FI, Goyenechea E, Larrarte E, Margareto J, Martínez JA. Differential expression of oxidative stress and inflammation related genes in peripheral blood mononuclear cells in response to a low-calorie diet: a nutrigenomics study. *OMICS*. 2008; 12:251-61.
- Dahlman I, Linder K, Arvidsson Nordström E, Andersson I, Lidén J, Verdich C, Sørensen TI, Arner P. Changes in adipose tissue gene expression with energy-restricted diets in obese women. *Am J Clin Nutr*. 2005; 81:1.275-85.
- Daniel H. Genomics and proteomics: importance for the future of nutrition research. *Br J Nutr*. 2002; 87:305-11.
- De Luis DA, González Sagrado M, Aller R, Izaola O, Conde R. Influence of Lys656Asn polymorphism of the leptin receptor gene on insulin resistance in nondiabetic obese patients. *J Diabetes Complications*. 2008; 22:199-204.
- Eaton SB. The ancestral human diet: what was it and should it be a paradigm for contemporary nutrition? *Proc Nutr Soc*. 2006; 65:1-6.
- Elliott R, Ong TJ. Nutritional genomics. *BMJ*. 2002; 324:1.438-42.
- Farooqi IS, O'Rahilly S. Recent advances in the genetics of severe childhood obesity. *Arch Dis Child*. 2000; 83:31-4.
- Gillies PJ. Nutrigenomics: the Rubicon of molecular nutrition. *J Am Diet Assoc*. 2003; 103:S50-5.
- Goyenechea E, Crujeiras AB, Abete I, Martínez JA. Expression of two inflammation-related genes (RIPK3 and RNF216) in mononuclear cells is associated with weight-loss regain in obese subjects. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2009; 2:78-84.
- Goyenechea E, Dolores Parra M, Alfredo Martínez J. Weight regain after slimming induced by an energy-restricted diet depends on interleukin-6 and peroxisome-proliferator-activated-receptor-gamma2 gene polymorphisms. *Br J Nutr*. 2006; 96:965-72.
- Goyenechea E, Parra D, Crujeiras AB, Abete I, Martínez JA. A nutrigenomic inflammation-related PBMC-based approach to predict the weight-loss regain in obese subjects. *Ann Nutr Metab*. 2009; 54:43-51.
- Goyenechea E, Parra D, Martínez JA. Impact of interleukin 6 -174G>C polymorphism on obesity-related metabolic disorders in people with excess in body weight. *Metabolism*. 2007; 56:1.643-8.
- Hebebrand J, Sommerlad C, Geller F, Gorg T, Hinney A. The genetics of obesity: practical implications. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001; 25:10-8.
- Kallio P, Kolehmainen M, Laaksonen DE, Kekäläinen J, Salopuro T, et al. 2007. Kallio P, Kolehmainen M, Laaksonen DE, Kekäläinen J, Salopuro T, Sivenius K, Pulkkinen L, Mykkänen HM, Niskanen L, Uusitupa M, Poutanen KS. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85:1.417-27.
- Kaminski WE, Jendraschak C, Kiefl R, von Schacky C. Dietary omega-3 fatty acids lower

- levels of platelet-derived growth factor mRNA in human mononuclear cells. *Blood*. 1993; 81:1871-79.
- Kaput J, Rodríguez RL. Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. *Physiol Genomics*. 2004; 16:166-77.
- Korner A, Kiess W, Stumvoll M, Kovacs P. Polygenic contribution to obesity: genome-wide strategies reveal new targets. *Front Horm Res*. 2008; 36:12-36.
- Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 2002; 288:2.709-16.
- Llorente-Cortés V, Estruch R, Mena MP, Ros E, González MA, Fitó M, Lamuela-Raventós RM, Badimon L. Effect of Mediterranean diet on the expression of pro-atherogenic genes in a population at high cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2010; 208:442-50.
- Loktionov A. Common gene polymorphisms and nutrition: emerging links with pathogenesis of multifactorial chronic diseases (review). *J Nutr Biochem*. 2003; 14:426-51.
- López-Miranda J, Ordovas JM, Mata P, Lichtenstein AH, Clevidence B, Judd JT, Schaefer EJ. Effect of apolipoprotein E phenotype on diet-induced lowering of plasma low density lipoprotein cholesterol. *J Lipid Res*. 1994; 35:1.965-75.
- Mahley RW, Weisgraber KH, Innerarity TL, Rall SC. Genetic defects in lipoprotein metabolism: Elevation of atherogenic lipoproteins caused by impaired catabolism. *JAMA*. 1991; 265:78-83.
- Marti A, Corbalán MS, Martínez-González MA, Forga L, Martínez JA. CHO intake alters obesity risk associated with Pro12Ala polymorphism of PPARGgamma gene. *J Physiol Biochem* 2002; 58:219-20.
- Marti A, De Miguel C, Jebb SA, Lafontan M, Laville M, Palou A, et al. Methodological approaches to assess body-weight regulation and aetiology of obesity. *Proc Nutr Soc*. 2000; 59:405-11.
- Marti A, Martínez-González MA, Martínez JA. Interaction between genes and lifestyle factors on obesity. *Proc Nutr Soc*. 2008; 67:1-8.
- Marti A, Moreno-Aliaga MJ, Zulet A, Martínez JA. Advances in molecular nutrition: nutrigenomics and/or nutrigenetics. *Nutr Hosp*. 2005; 20:157-64.
- Martin C, Zhang Y. Mechanisms of epigenetic inheritance. *Curr Opin Cell Biol*. 2007; 19: 266-72.
- Martínez JA, Corbalán MS, Sánchez-Villegas A, Forga L, Marti A, Martínez-González MA. Obesity risk is associated with carbohydrate intake in women carrying the Gln27Glu beta2-adrenoceptor polymorphism. *J Nutr*. 2003; 133:2549-54.
- Martínez JA, Enríquez L, Moreno-Aliaga MJ, Martí A. Genetics of obesity. *Public Health Nutr*. 2007; 10:1.138-44.
- Martínez JA, Parra MD, Santos JL, Moreno-Aliaga MJ, Marti A, Martínez-González MA. Genotype-dependent response to energy-restricted diets in obese subjects: towards personalized nutrition. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008; 17 (suppl.: 1):119-22.
- Minihane AM, Jofre-Monseny L, Olano-Martin E, Rimbach G. ApoE genotype, cardiovascular risk and responsiveness to dietary fat manipulation. *Proc Nutr Soc*. 2007; 66:183-97.
- Nishio K, Goto Y, Kondo T, Ito S, Ishida Y, Kawai S, et al. Serum folate and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism adjusted for folate intake. *J Epidemiol*. 2008; 18:125-31.
- Novo Villaverde FJ. *Genética Humana*. Madrid: Pearson, 2007.
- Ochoa MC, Santos JL, Azcona C, Moreno-Aliaga MJ, Martínez-González MA, Martínez JA, et al. Association between obesity and insulin resistance with UCP2-UCP3 gene variants in Spanish children and adolescents. *Mol Genet Metab*. 2007; 92:351-8.
- Ordovas JM, Mooser V. Nutrigenomics and nutrigenetics. *Curr Opin Lipidol*. 2004; 15:101-8.
- Panagiotou G, Nielsen J. Nutritional systems biology: definitions and approaches. *Annu Rev Nutr*. 2009; 29:329-39.

- Pérez-Echarri N, Pérez-Matute P, Marcos-Gómez B, Martí A, Martínez JA, Moreno-Aliaga MJ. Down-regulation in muscle and liver lipogenic genes: EPA ethyl ester treatment in lean and overweight (high-fat-fed) rats. *J Nutr Biochem*. 2009; 20:705-14.
- Pisabarro R. Nutrigenética y nutrigenómica: la revolución sanitaria del nuevo milenio. Implicancias clínicas en síndrome metabólico y diabetes tipo 2. *Rev Med Urug*. 2006; 22:100-7.
- Pisabarro RE, Sanguinetti C, Stoll M, Prendez D. High incidence of type 2 diabetes in peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 Pro12Ala carriers exposed to a high chronic intake of trans fatty acids and saturated fatty acids. *Diabetes Care*. 2004; 27:2.251-2.
- Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)*. 2006; 14:529-644.
- Razquin C, Martínez JA, Martínez-González MA, Bes-Rastrollo M, Fernández-Crehuet J, Martí A. A 3-year intervention with a Mediterranean diet modified the association between the rs9939609 gene variant in FTO and body weight changes. *Int J Obes (Lond)*. 2010; 34:266-72.
- Razquin C, Martí A, Martínez JA. Evidences on three relevant obesogenes: MC4R, FTO and PPAR $\gamma$ . Approaches for personalized nutrition. *Mol Nutr Food Res*. 2011; 55:136-49.
- Rucker R, Tinker D. The role of nutrition in gene expression. A fertile field for the application of molecular biology. *J Nutr*. 1986; 116:177-89.
- Sesti G, Perego L, Cardellini M, Andreozzi F, Ricasoli C, Vedani P, Guzzi V, Marchi M, Paganelli M, Ferla G, Pontiroli AE, Hribal ML, Folli F. Impact of common polymorphisms in candidate genes for insulin resistance and obesity on weight loss of morbidly obese subjects after laparoscopic adjustable gastric banding and hypocaloric diet. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90:5.064-9.
- Shiwaku K, Nogi A, Anuurad E, Kitajima K, Enkhmaa B, Shimono K, et al. Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003; 27:1.028-36.
- Simopoulos AP. The role of fatty acids in gene expression: health implications. *Ann Nutr Metab*. 1996; 40:303-11.
- Steemburgo T, Azevedo MJ, Martínez JA. Gene-nutrient interaction and its association with obesity and diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009; 53:497-508.
- Tao YX. The Melanocortin-4 Receptor: Physiology, Pharmacology, and Pathophysiology. *Endocr Rev*. 2010 (in press).
- Uusitupa M. Gene-diet interaction in relation to the prevention of obesity and type 2 diabetes: evidence from the Finnish Diabetes Prevention Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005; 15:225-33.
- Vella A, Camilleri M. Pharmacogenetics: potential role in the treatment of diabetes and obesity. *Expert Opin Pharmacother*. 2008; 9:1.109-19.
- Viguerie N, Poitou C, Cancellou R, Stich V, Clement K, Langin D. Transcriptomics applied to obesity and caloric restriction. *Biochimie*. 2005; 87:117-23.
- Yamada K, Chen Z, Rozen R, Matthews RG. Effects of common polymorphisms on the properties of recombinant human methylenetetrahydrofolate reductase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98:14.853-8.



# Avances en metabolómica nutricional

**Isabel Bondia Pons.** *Doctora en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Licenciada y Máster en Química por la Universidad de Barcelona. Investigadora Posdoctoral. Colaborador investigador de la Universidad de Navarra.*

**J. Alfredo Martínez Hernández.** *Catedrático de Nutrición. Universidad de Navarra.*

## Resumen

La metabolómica es la disciplina ómica dedicada al estudio global del metaboloma o conjunto de metabolitos endógenos y exógenos de bajo peso molecular (< 1.000 Da) presentes en un sistema biológico. Esta tecnología está enfocada a estudiar la dinámica, composición, interacciones y respuestas multiparamétricas del metaboloma a estímulos fisiopatológicos, cambios del entorno, tales como intervenciones nutricionales, o modificaciones genéticas. La caracterización del perfil metabólico no dirigido en muestras biológicas es la estrategia utilizada en este campo en los últimos años, y puede resultar de gran utilidad para la identificación de nuevos biomarcadores de salud, enfermedad y/u otros procesos patológicos, además de nuevos marcadores que reflejen la ingesta de determinados alimentos.

El metabolismo humano en sí está fuertemente influenciado por las interacciones de nuestros propios genes y las actividades de la microbiota del tracto intestinal, así como por factores nutricionales y ambientales. Los productos de esta interacción tienen una influencia directa, y en muchos casos aún desconocida, en la susceptibilidad a la enfermedad. Determinar cómo los procesos metabólicos humanos interactúan con los de la microbiota intes-

tinal ha sido considerado como una de las prioridades en la era metabolómica para la próxima década, ya que muchas enfermedades, entre ellas la diabetes, obesidad, y los desórdenes de carácter autoinmune están ligados a un deteriorado estado de salud intestinal y desequilibrios microbianos.

El elevado número de artículos en el campo demuestra que la metabolómica no es sólo un nuevo concepto "ómico" sino una emergente y valiosa herramienta para estudiar fenotipos y sus cambios causados por la dieta, enfermedad, o cambios en el genotipo.

En el presente capítulo se define el término de la metabolómica en el contexto de los estudios nutricionales y se resalta el interés de esta disciplina nutrigenómica para la búsqueda de nuevos biomarcadores y aplicaciones actuales. Asimismo se describen las etapas necesarias para la consecución de los estudios metabolómicos nutricionales, finalizando con casos reales que muestran la potencialidad del uso de la metabolómica en la nutrición.

## Metabolómica nutricional. Definición e interés

Definir el estado de salud de un individuo es extremadamente complejo. Los indivi-

dos sanos tienen una notable capacidad para mantener la homeostasis, a través de varios procesos, como la regulación metabólica directa, y efectivos mecanismos de defensa y reparación del estrés oxidativo e inflamatorio. Sin embargo, estos procesos difieren considerablemente de aquellos implicados en la aparición temprana de enfermedades relacionadas con la obesidad y la nutrición (Van Ommen *et al.*, 2008). Desde una perspectiva muy diferente a la nutrición tradicional, centrada en proveer nutrientes para alimentar a la población, la nutrición moderna tiene como objetivo principal la promoción de la salud y la prevención de enfermedades (Kusmann *et al.*, 2006). El desarrollo de nuevas dietas y de alimentos funcionales o nutricionalmente mejorados que ayuden a prevenir o retardar la aparición de enfermedades, en su mayoría crónicas, exige conocer primero los mecanismos de dicha prevención y protección; identificando las moléculas bioactivas implicadas en dichos mecanismos, evaluando y demostrando su eficacia (Rezzi *et al.*, 2007). En este sentido, el desarrollo de las disciplinas ómicas, tales como la transcriptómica, la proteómica y la metabolómica, aporta herramientas versátiles y complementarias de gran utilidad para llegar a elucidar y entender las funciones biológicas en el organismo humano a través de diferentes niveles de organización biomolecular y la "Biología de sistemas".

La nutrigenómica aborda las interacciones entre nutrición y genes, tanto la influencia de los nutrientes sobre la expresión génica como el papel de la base genética y de ciertas mutaciones sobre el metabolismo y la utilización nutritiva de los alimentos. Concretamen-

te, la metabolómica es la disciplina ómica dedicada al estudio global del metaboloma. El metaboloma es el conjunto de metabolitos endógenos (procedentes de rutas metabólicas tanto intracelulares como extracelulares) y de metabolitos exógenos (procedentes de alimentos, fármacos, contaminantes, etc.), todos ellos de bajo peso molecular (inferior a 1.000 Da), que se hallan presentes en un sistema biológico (Ellis *et al.*, 2007). La metabolómica estudia principalmente la dinámica, composición, interacciones y respuestas multiparamétricas de los metabolitos a estímulos fisiopatológicos, cambios del entorno, o modificaciones genéticas (Oresic, 2009). Cuando los cambios del entorno son debidos a una intervención de carácter nutricional se habla de metabolómica nutricional.

Son muchos los factores que influyen en el metabolismo humano, y consecuentemente en el metaboloma. Se diferencian dos tipos de factores, los intrínsecos y los extrínsecos. Entre los primeros destacan la composición corporal, el genotipo, la edad, el ritmo circadiano, y el estado reproductivo. Entre los factores extrínsecos, provenientes del exterior, figuran los tipos de nutrientes y no nutrientes, la actividad física, la microflora colónica y los medicamentos (Gibney *et al.*, 2005; Goodacre, 2007). La interacción de todos estos factores con el metaboloma humano añade un mayor grado de complejidad a su estudio. Asimismo, las concentraciones de metabolitos y sus cambios cinéticos en células, tejidos y órganos representan puntos finales reales de todos los procesos fisiológicos regulatorios que tienen lugar en el organismo humano. Las estrategias metabolómicas tienen como

objetivo detectar estos cambios dinámicos en la distribución y concentración de miles de metabolitos presentes en el organismo para poder ser posteriormente interpretados biológicamente. En concreto, la metabolómica nutricional se centra en identificar aquellos metabolitos que “marcan la diferencia” entre los efectos de diferentes nutrientes, compuestos bioactivos y/o dietas en las diferentes rutas metabólicas de nuestro organismo, profundizando en el conocimiento de la salud humana y en los papeles reguladores de la nutrición.

El estudio del perfil metabólico de muestras biológicas (más conocido con el término anglosajón “*metabolic profiling*”) es el enfoque estratégico utilizado en metabolómica. Desde un punto de vista técnico comprende dos tipos de aproximaciones: las estrategias de caracterización del perfil metabólico dirigidas (“*targeted approaches*”) y las no dirigidas (“*non-targeted approaches*”). La primera de ellas se basa en el análisis cuantitativo de un grupo de metabolitos relacionados con una ruta metabólica específica o con una determinada familia química de metabolitos (ie.: aminoácidos, lípidos, azúcares, ácidos grasos, ácidos biliares, esteroides). En el segundo caso, las estrategias no dirigidas se basan en comparar perfiles o “huellas metabólicas” (“*fingerprints*”) de metabolitos cambiantes en respuesta a una enfermedad, una alteración ambiental (ej.: intervención nutricional) y/o una alteración genética (Hollywood *et al.*, 2006). Conviene destacar que este tipo de enfoque no parte de hipótesis preestablecidas, ya que la misma aproximación es la encargada de generar hipótesis a posteriori en función de los resultados obtenidos.

El estudio y comparación de perfiles metabólicos es de gran utilidad para la identificación de biomarcadores de salud, enfermedad y/u otros procesos patológicos (Fonville *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2009; Young y Wallace, 2009). En este punto hay que destacar que el metabolismo humano en sí está fuertemente influenciado por las interacciones de nuestros propios genes y las actividades de la microbiota presente en el tracto intestinal, así como por multitud de factores nutricionales y ambientales (Dibaise *et al.*, 2008). Los productos de esta interacción tienen una influencia directa, y en muchos casos aún desconocida, en la susceptibilidad a la enfermedad. La determinación de las interacciones de los procesos metabólicos humanos con los de la microbiota intestinal es, pues, una de las prioridades en la era metabolómica para la próxima década. Este interés se debe a que muchas enfermedades, entre ellas la diabetes, obesidad y los desórdenes de carácter autoinmune, están ligadas a un deteriorado estado de salud intestinal y a desequilibrios microbianos (Kinross *et al.*, 2009; Tsai y Coyle, 2009; Turnbaugh y Gordon, 2009; Waldram *et al.*, 2009).

Entre los principales objetivos de la metabolómica nutricional figura establecer el estado metabólico exacto que separa la condición de salud de la de enfermedad, ya que es esa etapa en la que se podría incidir precozmente nutricionalmente para evitar el desarrollo de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, y evitar consecuentemente el tratamiento farmacológico. La aplicación temprana de terapias nutricionales óptimas, y en muchos casos personalizadas, basadas principalmente en cambios de patrones dietéticos

y estilo de vida, es la estrategia de actuación. La figura 1 muestra de forma esquemática los cambios dependientes del tiempo de los perfiles metabólicos de hipotéticos biomarcadores durante la progresión del estado de salud al estado de enfermedad en un individuo (Rist *et al.*, 2006). En cuanto los marcadores se desvían del intervalo de variación natural establecido, se entra en una etapa decisiva y crítica en la que los marcadores biológicos indican alteraciones preclínicas tempranas, que no pueden ser detectadas de otra forma. En este punto es cuando intervenciones nutricionales tempranas, unidas a estilos de vida saludables, pueden contribuir a evitar la aparición de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, que de no ser consideradas en su momento, podrían terminar requiriendo

de terapia farmacológica para su tratamiento. El uso de estrategias metabolómicas para detectar la presencia y evaluar el cambio de biomarcadores en las etapas preclínicas de la enfermedad es una herramienta útil a la hora de poder diseñar actuaciones nutricionales tempranas. Así pues, uno de los mayores retos para la comunidad científica es llegar a comprender la relación entre nutrición y enfermedades crónicas. Los enfoques metabolómicos pueden ser utilizados para predecir la susceptibilidad a los desórdenes metabólicos y poder dilucidar los mecanismos moleculares que pueden explicar los efectos beneficiosos de las intervenciones nutricionales (Lodge, 2010).

La metabolómica nutricional también se utiliza para demostrar la eficacia de inter-

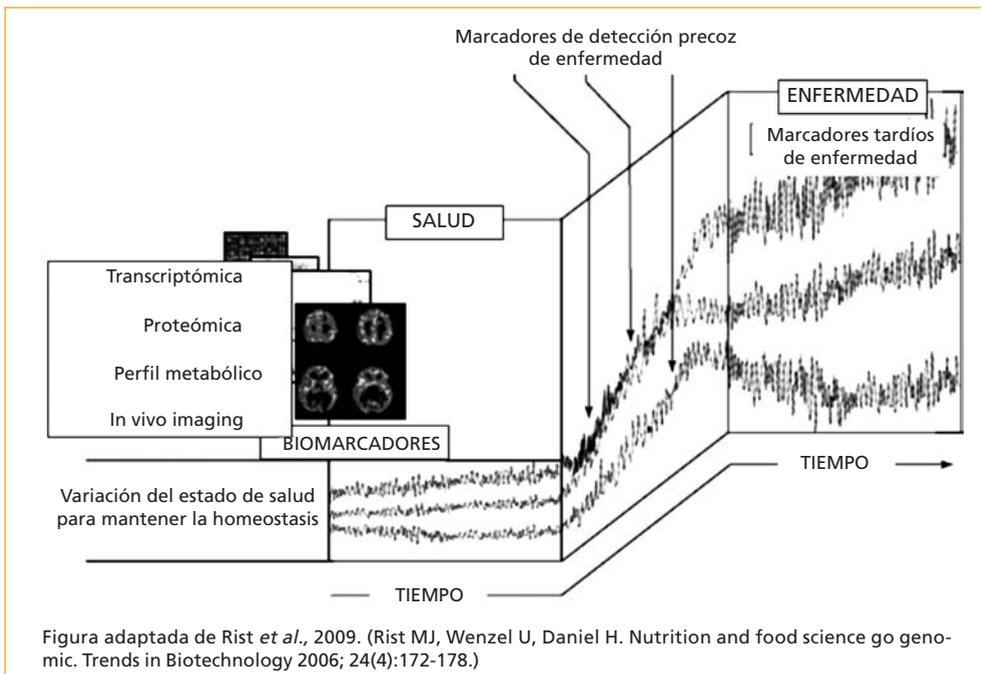


Figura 1. Potencial de la metabolómica en la detección temprana de enfermedades.

venciones nutricionales mediante el estudio del efecto de las mismas en el metabolismo de individuos sanos (Gibney *et al.*, 2005; Zivkovic y German, 2009). Entre los marcadores a identificar por medio de la metabolómica, se hallan los "marcadores de ingesta", herramientas objetivas a la hora de estimar el cumplimiento de dietas en los estudios (Favé *et al.*, 2009), que puede resultar de gran utilidad especialmente en estudios epidemiológicos, donde el número de individuos es cada vez más elevado. Un segundo tipo de marcador es el "biomarcador de efecto", que suele ser un metabolito endógeno que se encuentra modificado por acción de la intervención. La aplicación de la metabolómica en el campo de la nutrición supone a su vez un verdadero reto tecnológico, debido a la complejidad añadida que aporta el denominado "metaboloma del alimento" ("*food metabolome*") al estudio del metaboloma humano en general. El metaboloma humano consiste en un metaboloma endógeno propio y un metaboloma exógeno. Este último se compone del metaboloma del alimento, del metaboloma microbiano (que cohabita con el individuo) y del xenometaboloma (resultante del efecto de medicamentos, alérgenos, contaminantes ambientales, etc.). Todos estos metabolomas contribuyen al repertorio metabólico característico del organismo humano, siendo los efectos de sus múltiples interacciones en gran parte desconocidos en la actualidad.

Finalmente, la metabolómica también pretende proporcionar información crítica para transformar las recomendaciones nutricionales basadas en poblaciones en futuras recomendaciones dietéticas per-

sonalizadas, con el fin de ayudar a los individuos a mantener un estado saludable previniendo enfermedades crónicas (Go *et al.*, 2005). La idoneidad de las dietas personalizadas está basada en la enorme variación interindividual en el genotipo y fenotipo humano, que implica una respuesta diferente a la dieta en función de la persona. Esta situación se traduce a su vez en una variabilidad interindividual muy amplia en los perfiles metabólicos de la población, que requiere de estudios personalizados.

### **El estudio metabolómico nutricional de principio a fin**

Los estudios metabolómicos requieren de un diseño experimental muy cuidadoso debido a la enorme variación bioquímica interindividual. En este sentido, el diseño más apropiado es el de tipo cruzado, ya que cada individuo que se somete a la intervención es a su vez su propio control. Estudios controlados aleatorios cruzados son la opción más segura para obtener resultados fiables. En cuanto al número de participantes necesarios, éste ha de fijarse de acuerdo a requerimientos estadísticos, de forma que haya un número suficiente por grupo de intervención para poder aplicar modelos estadísticos robustos e interpretables que puedan ser validados previamente a su uso. Los criterios de inclusión y exclusión de los voluntarios han de escogerse en función del problema que se pretenda resolver con el estudio. En cualquier caso, se aconseja que sean lo más homogéneos para contrarrestar posibles fuentes de variación causadas por edad, sexo, medicación, estado reproductivo, entre otros.

Todo estudio metabolómico comprende una serie cronológica de etapas necesarias (Moco *et al.*, 2007) para su correcta ejecución y que consisten en:

1. Etapa de muestreo,
2. Etapa analítica de adquisición de datos,
3. Etapa de procesamiento de datos,
4. Etapa de identificación de biomarcadores, y
5. Etapa de localización de biomarcadores en rutas metabólicas para la interpretación biológica de los resultados (figura 2).

### Etapa de muestreo

Desde un punto de vista práctico, el análisis de fluidos y tejidos biológicos es la

clave de los análisis metabolómicos en humanos. Los biofluidos son muestras de fácil recogida y contienen una amplia diversidad de información metabólica, que puede ser capturada usando las técnicas analíticas utilizadas en metabolómica (Hu *et al.*, 2009; Issaq *et al.*, 2009). Las muestras de sangre (suero, plasma, eritrocitos) y orina son actualmente los fluidos biológicos más estudiados en el área de la metabolómica. La sangre es una fuente rica de metabolitos (nutrientes y otros compuestos bioactivos) en tránsito desde un órgano a otro. Estos metabolitos son retenidos en la sangre el mayor tiempo posible y solamente son expulsados en la orina cuando sus concentraciones en sangre se elevan por encima de los

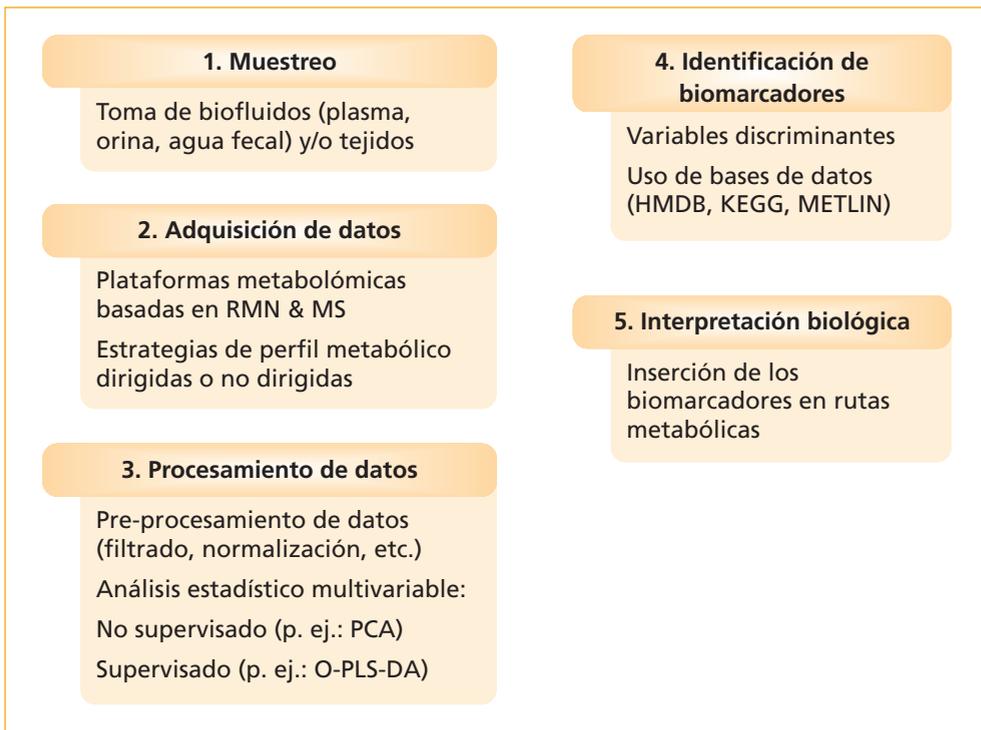


Figura 2. Esquema de las etapas del estudio metabolómico.

valores fisiológicos normales y exceden su valor renal umbral. La sangre es el biofluido de elección si se desea estudiar principalmente metabolitos endógenos que reflejen el impacto biológico de una intervención nutricional, mientras que la orina es aconsejable en aquellos casos en que el interés se centre en metabolitos exógenos resultantes de las transformaciones químico-físicas y de la acción microbiana del tracto gastrointestinal de compuestos derivados de los alimentos ingeridos. La vida media de un compuesto es también un factor importante a valorar a la hora de elegir el biofluido óptimo en el que pueda ser identificado y finalmente cuantificado. La orina, por ejemplo, acumula muchos productos finales del metabolismo, y varía considerablemente su composición en función de la dieta. La composición de otros fluidos del organismo puede controlarse más rígidamente, variando la excreción de muchos metabolitos en orina. En este contexto, Walsh y colaboradores demostraron que controlando rigurosamente la dieta durante las 24 horas previas a la recogida de muestra reducen el grado de variación en los perfiles metabólicos de orina, pero no en los de plasma recogida en condiciones de ayuno o en los de saliva (Walsh *et al.*, 2006, 2007). El uso de heces, bien liofilizadas o en forma de agua fecal, es relativamente nuevo y puede ser muy útil para investigaciones de microbiota intestinal (Lodge, 2010). El análisis de tejidos y células requiere de mayor especialización y está todavía en sus inicios en el campo de la metabolómica nutricional. Entre los tejidos de interés destaca el tejido adiposo por su interés en aplicaciones de lipídica (Mattila *et al.*, 2008).

## Etapa de adquisición de datos

La adquisición de datos es la etapa analítica de todo estudio metabolómico. La complejidad del metaboloma impide el uso de una única plataforma analítica para su estudio (Issaq *et al.*, 2009) por lo que se requiere de metodologías complementarias para obtener el mayor volumen de información disponible. Las técnicas analíticas actuales de mayor rigor en metabolómica nutricional son la resonancia magnética nuclear (RMN) y la espectrometría de masas (MS) acoplada o no a separación cromatográfica, que puede ser líquida (LC) o gaseosa (GC).

Históricamente, la RMN ha sido la plataforma analítica de elección y aún representa la metodología más común en el campo de la metabolómica (Lodge, 2010; Scalbert *et al.*, 2009). La principal ventaja de esta técnica radica en que no requiere de tratamiento previo de la muestra, por lo que el espectro contiene información de proteínas además de sobre los metabolitos de bajo peso molecular. La mayor limitación de esta técnica en comparación con la MS, es su baja sensibilidad (Martin *et al.*, 2007), que está siendo mejorada gracias a los últimos avances en instrumentación. Las plataformas basadas en espectrometría de masas ofrecen información espectral (masa exacta del ión molecular, patrones de fragmentación) que, sumadas a la alta sensibilidad de la técnica, contribuyen a la identificación de metabolitos (Dettmer *et al.*, 2007).

Entre los enfoques utilizados, el *finger-printing* basado en MS comenzó a utilizarse en el campo de la nutrición a partir de 2008 en estudios de animales (Fardet *et al.*, 2008; Kuhl *et al.*, 2008; Shen *et al.*,

2008), siendo su aplicación muy reciente en nutrición humana (Scalbert *et al.*, 2009). La mayoría de métodos utilizan una etapa cromatográfica de separación previa a la detección por masas. El uso de GC presenta la ventaja de ofrecer separaciones eficientes a tiempos de retención reproducibles. Como los compuestos a analizar por GC han de ser volátiles, en la mayoría de los casos se requiere de una etapa de derivatización de los metabolitos en estudio. Una opción más robusta a la GC clásica es la GC bidimensional (Koek *et al.*, 2008), cuya aplicación en estudios clínicos humanos es todavía muy incipiente (Oresic *et al.*, 2008). La cromatografía líquida permite el uso de un variado rango de detectores dependiendo de la resolución que se desee y requiere casi siempre de análisis adicionales por MS/MS para caracterizar las estructuras de los metabolitos analizados. Alternativamente, existen plataformas metabolómicas basadas en infusión directa o FIE-MS (*flow injection electrospray ionization*), caracterizadas por no presentar etapa de separación cromatográfica (Boernsen *et al.*, 2005; Beckmann *et al.*, 2008).

### **Etapas de procesamiento de datos**

El elevado número de datos generados en la etapa de adquisición de datos requiere de un tratamiento estadístico específico para su procesado, conocido como análisis estadístico multivariable. Las técnicas quimiométricas más utilizadas se basan en herramientas de compresión de datos. Su fundamento consiste en reducir la dimensionalidad de los datos para poder facilitar su visualización gráfica de forma que se puedan observar separaciones

entre muestras en forma de agrupaciones o clústeres según su perfil metabólico. Entre las etapas básicas del procesamiento de datos figuran la clasificación de muestras, la reducción de la dimensionalidad, su visualización y la diferenciación de perfiles (Broadhurst y Kell, 2006). Las técnicas de análisis multivariable pueden ser supervisadas o no supervisadas. Entre las últimas figura la técnica más utilizada actualmente, denominada análisis de componentes principales (PCA). Los componentes principales representan la variancia entre muestras, de forma que aquellas muestras que presentan un perfil metabólico similar aparecen agrupadas en una representación gráfica denominada "*scores plot*" (Lodge, 2010). Un segundo gráfico, el "*loadings plot*", es el encargado de mostrar aquellos marcadores responsables del agrupamiento de las muestras en el "*score plot*" (figura 3). En el caso de una plataforma basada en LC-MS, cada marcador (ión) viene caracterizado por su masa molecular exacta, su tiempo de retención y su intensidad, generándose una lista de biomarcadores potencialmente responsables de las diferencias halladas entre muestras. Las técnicas supervisadas (ej.: *Partial Least Squares Discriminant Analysis*; PLSDA) incluyen información a priori de la clasificación de las muestras, pero deben ser validadas cuidadosamente previamente a su aplicación, con el fin de evitar falsos positivos (Westerhuis *et al.*, 2010).

Los métodos de *clustering* o agrupación selectiva son importantes para visualizar grupos de muestras con perfiles metabólicos diferentes, pero una vez conseguida la separación de grupos, es necesario identificar aquellos metabolitos responsa-

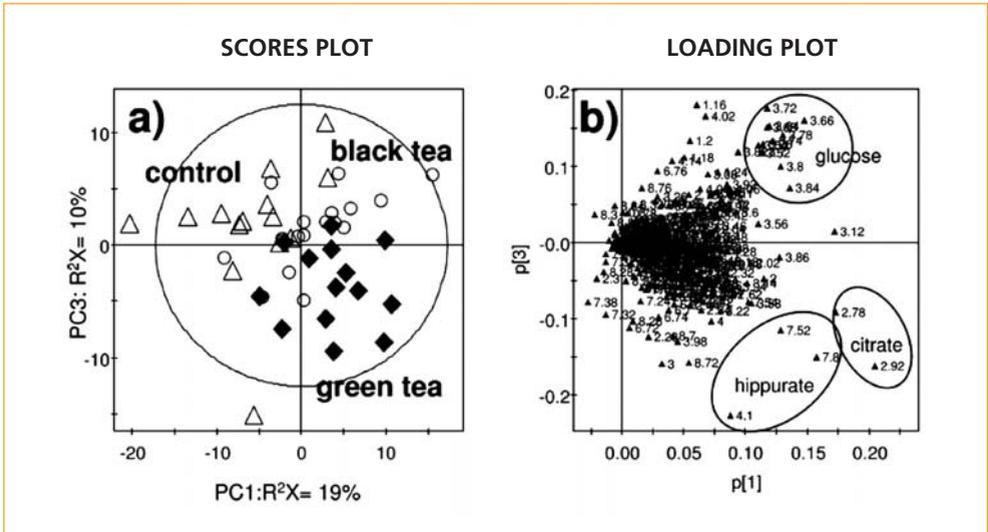


Figura 3. Ejemplo de gráficos obtenidos en el análisis de componentes principales (PCA).

bles de la variación entre los grupos de muestras (biomarcadores potenciales), ya que esta información puede ser utilizada directamente en el análisis de rutas metabólicas (Lodge, 2010).

### Etapa de identificación de biomarcadores

La identificación de metabolitos es una parte esencial de cualquier experimento metabolómico. Lamentablemente, debido a que la identificación de metabolitos es una de las etapas más difíciles y que conlleva un tiempo considerable en metabolómica, este proceso crucial es, a menudo, relegado a las etapas finales del estudio y en muchas ocasiones, queda inacabado o es ignorado. Sin una identificación rigurosa de metabolitos, el descubrimiento de diferentes patrones metabólicos mediante los análisis estadísticos multivariados deja de tener sentido (Scalbert *et al.*, 2009).

La etapa de identificación de biomarcadores se basa en determinar la estructura química de aquellos metabolitos que varían significativamente en función de la intervención nutricional y que pueden contribuir significativamente a explicar el efecto biológico que dicha intervención tiene sobre el metabolismo humano.

La identificación de metabolitos se lleva a cabo comparando los datos espectrales (masa exacta y masa de fragmentos) en el caso de plataformas MS y de frecuencias en el caso de plataformas de RMN, con los datos disponibles en bases de datos de compuestos, o por comparación con patrones. A pesar del gran esfuerzo de compilar el máximo de información estructural por parte de las bases de datos (Go, 2010) disponibles en el campo de la metabolómica (tabla 1), en la actualidad no más del 10% de los iones observados por espectrometría de masas de alta resolución puede llegar a ser identificado

**Tabla 1. Bases de datos para la identificación de metabolitos.**

Nombre	Dirección de la web	Plataforma (si procede)
Human Metabolome Database	<a href="http://www.hmdb.ca">www.hmdb.ca</a>	MS y RMN
Phenol-Explorer	<a href="http://www.international.inra.fr/partnerships/with_the_private_sector/live_from_the_labs/phenol_explorer">www.international.inra.fr/partnerships/with_the_private_sector/live_from_the_labs/phenol_explorer</a>	MS
Functional Glycomics Gateway	<a href="http://www.functionalglycomics.org">www.functionalglycomics.org</a>	
MassBank	<a href="http://www.massbank.jp">www.massbank.jp</a>	MS
Lipids Maps	<a href="http://www.lipidmaps.org">www.lipidmaps.org</a>	MS
METLIN	<a href="http://www.metlin.scripps.edu">www.metlin.scripps.edu</a>	MS
CyberCell Database	<a href="http://www.redpoll.pharmacy.ualberta.ca">www.redpoll.pharmacy.ualberta.ca</a>	
HORA suite	<a href="http://www.paternostrolab.org">www.paternostrolab.org</a>	
Biological Magnetic Resonance Data Bank	<a href="http://www.bmrw.wisc.edu">www.bmrw.wisc.edu</a>	RMN
SpecInfo	<a href="http://cds.dl.ac.uk/cds/datasets/spec/specinfo/specinfo.html">http://cds.dl.ac.uk/cds/datasets/spec/specinfo/specinfo.html</a>	MS y RMN
Spectral Database for Organic Compounds	<a href="http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi">http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi</a>	MS y RMN
The Magnetic Resonance Metabolomics Database	<a href="http://www.liu.se/hu/md/main">www.liu.se/hu/md/main</a>	RMN
Chemspider	<a href="http://www.chemspider.com/">http://www.chemspider.com/</a>	–

mediante la comparación de masas exactas en librerías de metabolitos de libre acceso. De hecho, un elevado porcentaje de potenciales biomarcadores de intervenciones nutricionales permanece aún sin identificar. Parte de la complejidad para identificar metabolitos se debe a la gran diversidad de modificaciones químicas (principalmente: hidroxilaciones, metilaciones, epoxidaciones, esterificaciones, glicosilaciones, oxidaciones, reducciones e isomerizaciones) que tienen lugar en el organismo humano desde que el metabolito es ingerido, se metaboliza, interacciona (por ejemplo, con otros metabolitos o con la microbiota presente en el tracto intestinal) y actúa en nuestro organismo produciendo un efecto (biológico, fisiológico),

hasta que es finalmente excretado (Issaq *et al.*, 2009).

Recientemente se han publicado una serie de pautas y recomendaciones con el fin de estandarizar la etapa de identificación de metabolitos en los estudios metabolómicos nutricionales (Scalbert *et al.*, 2009). Estas recomendaciones surgen de las conclusiones derivadas del seminario “*Tools y Methods for Mass Spectrometry Metabolomics in Nutrition*”, organizado por la Organización Europea de Nutrigenómica (NuGO) en 2007. Entre ellas destacan:

- La identificación y la cuantificación de metabolitos debe ser una prioridad en cualquier experimento metabolómico basado en espectrometría de masas.

- Los metabolitos deben ser clasificados como: a) desconocido (si no se ha logrado su identificación); b) perteneciente a una familia química específica (ej.: tipo de polifenol); c) putativamente identificado por su patrón de fragmentación al aplicar tándem MS; d) confirmado mediante el uso de un patrón de referencia.
- Las bases de datos, tanto para GC-MS como para LC-MS, deben ser de libre acceso a toda la comunidad científica.
- El uso de patrones de referencia (*"golden standards"*), consistentes en muestras sintéticas de plasma, orina y fluido cerebroespinal, deben poder usarse por todos los grupos de investigación que trabajen en el campo de la metabolómica, con el fin de aplicar protocolos en curso, comprobar la eficacia de nuevos protocolos y poder verificar la reproducibilidad inter e intra-laboratorio.
- Los patrones de referencia deben comprender un mínimo de 50 compuestos de origen químico diverso, y estar presentes en biofluidos en un rango amplio de concentraciones (pM a mM).

### Etapa de inserción de biomarcadores en rutas metabólicas

La última etapa del estudio metabolómico nutricional es interpretar en un contexto biológico los cambios observados en los biomarcadores, para poder evaluar si existe o no un efecto beneficioso derivado de la intervención, y en el caso de que sí exista, poder dilucidar el mecanismo de acción por el que el biomarcador o biomarcadores ejerce su efecto.

Cuando un metabolito es identificado y se incorpora a una ruta metabólica, su localización en dicha ruta puede servir a su vez como punto de partida para identificar otros metabolitos adicionales hasta entonces desconocidos, pero que, al estar relacionados estructuralmente, pueden acabar perteneciendo a esa misma vía metabólica (Isaaq *et al.*, 2009). En la tabla 2 se citan las principales páginas web de rutas metabólicas conocidas hasta el momento. Entre las rutas metabólicas más estudiadas destacan las relacionadas con el metabolismo energético (Yang *et al.*, 2008), el metabolismo de la colina (Baykal *et al.*, 2008) y el metabolismo de los aminoácidos.

**Tabla 2. Webs de las principales rutas metabólicas.**

Nombre	Dirección de la web
Reactome	<a href="http://www.reactome.org">www.reactome.org</a>
KEGG	<a href="http://www.genome.jp">www.genome.jp</a>
ExpASY	<a href="http://www.expasy.org">www.expasy.org</a>
BioCyc	<a href="http://www.biocyc.org">www.biocyc.org</a>
SGD	<a href="http://www.yeastgenome.org">www.yeastgenome.org</a>
NuGO	<a href="http://www.nugowiki.org">www.nugowiki.org</a>

El éxito de una correcta interpretación biológica radica en poder dar respuesta al final del estudio metabolómico a preguntas tales como:

- ¿Se ha logrado comprender la función biológica del metabolito X en la matriz estudiada?
- ¿Se ha logrado entender la relevancia de los cambios en la concentración encontrados en determinados metabolitos en los biofluidos estudiados?

- ¿Han conseguido las huellas metabólicas (“*fingerprints*”) halladas aportar más información que la suma de los componentes por separado?

A pesar de los esfuerzos realizados en establecer conexiones claras entre biomarcadores y rutas metabólicas, actualmente todavía es muy difícil interpretar los cambios en la concentración de un metabolito en un contexto dado.

## Ejemplos de estudios en metabolómica nutricional

El primer estudio metabolómico real aplicado al campo de la nutrición humana se llevó a cabo hace tan sólo 7 años, hecho que muestra que la metabolómica está todavía en una etapa de crecimiento y desarrollo en comparación con la aplicación del resto de disciplinas “ómicas” a la nutrición humana. La tabla 3 muestra a modo de resumen diferentes tipos de estudios metabolómicos en nutrición humana. Cuatro de estos estudios se comentan más detalladamente en este capítulo.

### Ejemplo 1. El primer estudio metabolómico nutricional

En el primer estudio metabolómico nutricional, Solanky y colaboradores aplicaron 1H-RMN para analizar los efectos bioquímicos de isoflavonas procedentes de una dieta con soja en el perfil de plasma de mujeres premenopáusicas sanas. Para minimizar la variabilidad biológica inherente, los autores controlaron los periodos de control y de ingesta de soja (60 g/día; 45 mg isoflavonas) de forma estricta. Asimismo, se utilizaron algoritmos matemáticos específicos en el procesamiento de

datos para filtrar cualquier variación sistemática presente en los datos que no estuviera relacionada con la ingestión de la soja. La intervención con soja provocó cambios en concentraciones de determinados metabolitos. En todos los individuos se observó una reducción de los niveles de azúcares en plasma y un incremento en los de lactato, indicando un incremento en el metabolismo anaeróbico. También se observaron variaciones sujeto-específicas en aminoácidos glucogénicos (isoleucina y valina), triglicéridos y colina. El incremento observado en los niveles de lactato, sumado al de los aminoácidos glucogénicos, sugiere que la gluconeogénesis se ve inhibida por la acción de la intervención con soja. En resumen, los resultados obtenidos del estudio sugirieron cambios tanto en el metabolismo glucídico como en el metabolismo energético atribuibles a la ingesta de isoflavonas de soja.

### Ejemplo 2. Búsqueda de marcadores y cambios metabólicos sutiles para diferenciar alimentos similares.

#### El ejemplo del té negro y el té verde

Una de las aplicaciones de la metabolómica nutricional es poder diferenciar los efectos metabólicos de alimentos similares. Un buen ejemplo de esta aplicación es el estudio llevado a cabo por el grupo de Van Dorsten (Van Dorsten *et al.*, 2006). El objetivo del estudio era comparar los efectos que tienen la ingesta de té negro y de té verde en el metabolismo humano. Para ello, se reclutaron 17 hombres sanos, que consumieron té negro, té verde (1 g/día) y cafeína (placebo; 360 mg) en el contexto de una dieta baja en polifenoles siguiendo un diseño cruzado.

**Tabla 3. Estudios metabolómicos nutricionales.**

Referencia	Plataforma	Descripción del estudio	Muestra
Solanky <i>et al.</i> , 2003 y 2005	RMN	Efecto de la ingesta de isoflavonas por mujeres sanas premenopáusicas en el metabolismo oxidativo humano. n = 5	Plasma y orina
Lenz <i>et al.</i> , 2004	RMN	Comparación de poblaciones con hábitos nutricionales diferentes (UK vs. Suecia), no intervención. n = 30	Orina
Daykin <i>et al.</i> , 2005	RMN	Estudio de los efectos del consumo de té negro en el metabolismo humano. Toma única de té en el contexto de una dieta baja en polifenoles. n = 3	Orina
Wang <i>et al.</i> , 2005	RMN	Estudio de los efectos de la ingesta de té de camomila en el metabolismo humano. n = 14	Orina
Stella <i>et al.</i> , 2006	RMN	Búsqueda de biomarcadores de ingesta de carne. Comparación de dietas vegetarianas, de baja ingesta de carne, de alta ingesta de carne. n = 12	Orina
Van Dorsten <i>et al.</i> , 2006	RMN	Estudio del efecto del metabolismo intestinal bacteriano de los flavanoles del té negro y del té verde.	Plasma y orina
Rezzi <i>et al.</i> , 2007	RMN	Estudio del efecto de las preferencias dietéticas. Ingesta de chocolate por parte de individuos a los que les gusta el chocolate y a los que no. 5 días. n = 22	Plasma
Walsh <i>et al.</i> , 2007	RMN	Estudio de los efectos de la estandarización de la dieta en el metaboloma de diferentes biofluidos. n = 30	Orina, plasma, saliva
Jacobs <i>et al.</i> , 2008	RMN	Estudio de la fermentación microbiana de zumo de uva y de extracto de vino en heces. n = 53	Heces
Grün <i>et al.</i> , 2008	GC-MS	Efecto de la fermentación microbiana de extractos ricos en polifenoles y té verde en diferentes muestras.	Plasma, orina, heces
Shaham <i>et al.</i> , 2008	LC-MS	Estudio del efecto de una prueba oral de glucosa en población joven y de edad avanzada.	Plasma
Lankinen <i>et al.</i> , 2009	UPLC-MS	Estudio del efecto de la ingesta de pescado blanco y pescado azul en el perfil sérico de los lípidos de individuos con enfermedad coronaria. n = 33	Plasma
Martin <i>et al.</i> , 2009	RMN	Estudio de los efectos metabólicos de la ingesta de chocolate negro en el metabolismo energético, la microbiota intestinal y el metabolismo del estrés en individuos sanos. n = 30	Plasma y orina
Zhao <i>et al.</i> , 2009	LC-MS	Estudio de los cambios ocasionados por un test oral de tolerancia a la glucosa (OGTT). n = 16	Plasma
Lankinen <i>et al.</i> , 2010	GC-MS y LC-MS	Estudio del efecto de una modificación en carbohidratos en los perfiles metabólicos del suero de individuos con síndrome metabólico.	Plasma
Van Dorsten <i>et al.</i> , 2010	GC-MS	Estudio del impacto metabólico de la ingesta de vino tinto y zumo de uva ricos en polifenoles en individuos sanos. n = 58	Orina
Xu <i>et al.</i> , 2010	RMN	Identificación de cambios bioquímicos en orina de lactovegetarianos. n = 161	Orina

Los perfiles metabólicos, tras analizar muestras de orina de 24 horas y de plasma por 1H-RMN, mostraron que la ingesta de té verde y té negro resultó en un aumento similar de excreción en orina de dos productos finales de la degradación de los flavonoides del té por parte de bacterias colónicas (ácido hipúrico y de 1,3-dihidroxifenil-2-O-sulfato). La ingesta de ambos tipos de té también tuvo un impacto en metabolitos endógenos. La ingesta de té verde causó un aumento más elevado de diversos metabolitos intermedios del ciclo del ácido cítrico, sugiriendo un efecto de los flavanoles del té verde en el metabolismo energético oxidativo humano.

### Ejemplo 3. Un estudio metabólico nutricional lipidómico

Los lípidos son un grupo muy diverso de metabolitos caracterizado por sus muchas funciones biológicas claves para el buen funcionamiento de nuestro organismo, ya que son componentes estructurales imprescindibles en las membranas de las células, son fuente de reserva energética e intervienen en diversas rutas metabólicas de señalización (Oresic, 2009). Debido a sus múltiples funciones y su diversidad en estructuras, existe una rama de la metabolómica exclusivamente dedicada a los lípidos a la que se denomina lipidómica.

Lankinen y colaboradores aplicaron la lipidómica en un estudio destinado a investigar cómo la ingesta de pescado azul y de pescado blanco en la dieta afecta al perfil sérico lipidómico de individuos con enfermedad coronaria (Lankinen *et al.*, 2009). El estudio, a escala piloto, consistió en un diseño en paralelo de 8 semanas con un

total de 33 pacientes distribuidos equitativamente entre los grupos de intervención (pescado azul, pescado blanco; cuatro raciones diarias de pescado) y el grupo control.

Los resultados de los análisis por UPLC-ESI-MS y GC-MS mostraron diferencias significativas en una gran variedad de lípidos bioactivos en función de la intervención. Ceramidas, lisofosfatidilcolinas y diacilgliceroles disminuyeron sus niveles de forma significativa a consecuencia de la intervención con pescado azul, mientras que tras la intervención con pescado blanco, aumentaron determinados ésteres de colesterol y triglicéridos de cadena larga. Los autores proponen que los cambios observados en los niveles de ceramidas y diacilgliceroles pueden ser debidos a una relación entre ácidos grasos  $\omega$ -3 y resistencia a la insulina. La disminución de lisofosfatidilcolina en el grupo de intervención de pescado azul puede estar también relacionada con un efecto antiinflamatorio de los ácidos grasos  $\omega$ -3.

### Ejemplo 4. La relación de fenotipos metabólicos con preferencias alimentarias

Las preferencias dietéticas y los hábitos alimentarios, que son predominantemente de origen cultural, afectan indudablemente a la salud de los individuos. La elección de un alimento es un proceso de decisión que integra múltiples determinantes de tipo biológico, socioeconómico, psicológico y de comportamiento. Entre los procesos biológicos que guían a la persona a realizar sus preferencias por determinados productos destacan los aspectos relacionados con la saciedad, el hambre, la palatabilidad y las propiedades organolépticas

y sensoriales del alimento. Hasta hace poco no se había considerado relacionar diferentes “metabotipos” (fenotipo metabólico) con diferentes preferencias alimentarias. En este sentido, Rezzi y colaboradores diseñaron un estudio basado en RMN para identificar si se podían distinguir diferentes subclases metabólicas específicas de individuos, i.e., diferentes metabotipos en función de la preferencia por un determinado alimento. Para ello, se analizaron a través de plataformas metabolómicas de RMN muestras de plasma y orina de varones sanos a los que se les dio 50 g de chocolate (intervención) o 50 g de pan (control) en un estudio controlado doble cruzado de 5 días de duración. Al inicio del estudio, los voluntarios fueron clasificados en dos fenotipos de comportamiento en base a sus preferencias por el chocolate. El uso de un cuestionario de hábitos y preferencias alimentarias permitió clasificar a los individuos en dos grupos: un primer grupo caracterizado por “un deseo intenso de comer chocolate” y un segundo grupo caracterizado por un “deseo indiferente de comer chocolate”. Para evitar variabilidad interindividual causada por la dieta, durante los 5 días del estudio, todos los participantes siguieron una dieta común controlada, que evitaba el consumo de café, chocolate y derivados, bebidas refrescantes y energéticas, comidas picantes y bebidas alcohólicas.

Los resultados del estudio mostraron que la ingesta de los 50 g de chocolate durante el periodo de intervención no tuvo ningún efecto en la separación de los metabotipos, debido a que la discriminación entre grupos ya se consiguió al inicio del estudio. Este hecho confirma que existen

metabotipos determinados en base a preferencias por ciertos alimentos. Los autores puntualizan que el “metabolito chocolate” debe depender posiblemente de otros alimentos y hábitos alimentarios, y no únicamente de la preferencia por este producto, por lo que la preferencia por el chocolate sólo debe ser uno de los indicadores objetivos de una preferencia alimentaria más compleja.

Los principales determinantes metabólicos en los metabotipos hallados en el estudio fueron la disminución de la concentración de LDL y los elevados niveles de albúmina en el grupo con un “deseo intenso de comer chocolate”. Curiosamente, este grupo mostró un estado intrínseco lipídico y de lipoproteínas incluso en ausencia de la estimulación con los 50 g de chocolate.

Asimismo, la caracterización de los metabotipos también se vio reflejada en los perfiles de metabolitos en orina, sugiriendo un metabolismo energético y microbiano diferente para ambos grupos. La elevada excreción en orina de fenilacetilglutamina y citrato en el caso del grupo con “un deseo intenso de comer chocolate” sugiere una diferente modulación del ciclo del ácido cítrico, así como variaciones en el pH tubular renal y sus consecuentes cambios en la actividad de la aconitasa. Por otra parte, los niveles relativamente elevados de carnitina y N-acetil-carnitina en la orina del grupo con un “deseo indiferente de comer chocolate” podrían estar relacionados con un metabolismo basal energético diferente, por ejemplo, oxidación lipídica, en relación con la tendencia observada con la excreción de los cuerpos cetónicos acetona y acetoacetato.

Así pues, los resultados del estudio mostraron diferencias inherentes en las actividades metabólicas de la microbiota de los individuos dependiendo de sus preferencias alimentarias. Estas diferencias podrían ser de importancia para la salud del individuo a largo plazo y requieren de nuevos estudios en el campo de la caracterización del microbioma.

En definitiva, la comparación de biomarcadores metabólicos asociados con diferentes hábitos alimentarios puede ser útil a la hora de proveer de una futura base objetiva para clasificar respuestas a determinadas dietas o alimentos y aplicar una nutrición personalizada optimizada en base a las diferencias entre diferentes metabotipos.

## Conclusiones

Los actuales estudios metabolómicos demuestran que la metabolómica no es sólo un nuevo concepto "ómico" sino una emergente, objetiva y valiosa herramienta para estudiar fenotipos y sus cambios metabólicos causados por acción de la dieta, de diversas patologías y/o de un determinado genotipo.

Gracias a los avances tecnológicos en metabolómica, en un futuro se podrán llegar a caracterizar nuevos marcadores en forma de perfiles metabólicos que reflejen de forma objetiva la ingesta no sólo de alimentos específicos, sino también de patrones dietarios completos. Con la identificación de nuevos metabolitos en muestras biológicas menos exploradas, tales como las heces, se abre una nueva posibilidad para establecer el papel que el microbioma ejerce en la salud de los individuos, que actualmente es desconocido.

Este avance en el estudio del microbioma y su interacción con la salud nutricional del individuo puede ayudar a clarificar las rutas metabólicas y los mecanismos de acción de ciertos metabolitos en enfermedades crónicas, tales como la diabetes, y los desórdenes de carácter autoinmune, que se cree están ligados a un deteriorado estado de salud intestinal y a desequilibrios microbianos.

## Bibliografía recomendada

Baykal AT, Jain MR, Li H. Aberrant regulation of choline metabolism by mitochondrial electron transport system inhibition in neuroblastoma cells. *Metabolomics*. 2008; 4(4):347-56.

Beckmann M, Parker D, Enot DP, Duval E, Draper J. High-throughput, nontargeted metabolite fingerprinting using nominal mass flow injection electrospray mass spectrometry. *Nat Protoc*. 2008; 3(3):486-504.

Boernsen KO, Gatzek S, Imbert G. Controlled protein precipitation in combination with chip-based nanospray infusion mass spectrometry. An approach for metabolomics profiling of plasma. *Anal Chem*. 2005; 77(22):7.255-64

Broadhurst DI, Kell DB. Statistical strategies for avoiding false discoveries in metabolomics and related experiments. *Metabolomics*. 2006; 2(4):171-96.

Ellis DI, Dunn WB, Griffin JL, Allwood JW, Goodacre R. Metabolic fingerprinting as a diagnostic tool. *Pharmacogenomics* 2007; 8(9):1.243-66.

Daykin CA, Van Duynhoven JP, Groenewegen A, Dachtler M, Van Amelsvoort JM, Mulder TP. Nuclear magnetic resonance spectroscopic based studies of the metabolism of black tea polyphenols in humans. *J Agric Food Chem*. 2005; 53(5):1.428-34.

Dettmer K, Aronov PA, Hammock BD. Mass spectrometry-based metabolomics. *Mass Spectrom Rev*. 2007; 26(1):51-78.

- DiBaise JK, ZH, Crowell MD, Krajmalnik-Brown R, Decker GA, Rittmann BE. Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clin Proc.* 2008; 83(4):460-9.
- Fardet A, Llorach R, Orsoni A, Martin JF, Pujos-Guillot E, Lapiere C, Scalbert A. Metabolomics provide new insight on the metabolism of dietary phytochemicals in rats. *J Nutr.* 2008; 138(7):1.282-7.
- Favé G, Beckmann ME, Draper JH, Mathers JC. Measurement of dietary exposure: a challenging problem which may be overcome thanks to metabolomics? *Genes Nutr.* 2009; 4(2):135-41.
- Fonville JM, Maher AD, Coen M, Holmes E, Lindon JC, Nicholson JK. Evaluation of Full-Resolution J-Resolved 1H NMR Projections of Biofluids for Metabonomics Information Retrieval and Biomarker Identification. *Anal Chem.* 2010; 82(5):1.811-21.
- Gibney MJ, Walsh M, Brennan L, Roche HM, German B, Van Ommen B. Metabolomics in human nutrition: opportunities and challenges. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(3):497-503.
- Go EP. Database resources in metabolomics: an overview. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2010; 5(1):18-30.
- Go VL, Nguyen CT, Harris DM, Lee WN. Nutrient-gene interaction: metabolic genotype-phenotype relationship. *J Nutr.* 2005; 135(12 Suppl.):3.016-20.
- Goodacre R. Metabolomics of a superorganism. *J Nutr.* 2007; 137(1 Suppl.):259S-66S.
- Grün CH, Van Dorsten FA, Jacobs DM, Le Belleguic M, Van Velzen EJ, Bingham MO, Janssen HG, Van Duynhoven JP. GC-MS methods for metabolic profiling of microbial fermentation products of dietary polyphenols in human and in vitro intervention studies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2008; 871(2):212-9.
- Hollywood K, Brison DR, Goodacre R. Metabolomics: current technologies and future trends.
- Hu C, Van der Heijden R, Wang M, Van der Greef J, Hankemeier T, Xu G. Analytical strategies in lipidomics and applications in disease biomarker discovery. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2009; 877(26):2.836-46.
- Issaq HJ, Van QN, Waybright TJ, Muschik GM, Veenstra TD. Analytical and statistical approaches to metabolomics research. *J Sep Sci* 2009; 32(13):2183-99. *Proteomics* 2006; 6(17):4.716-423.
- Jacobs DM, Deltimple N, Van Velzen E et al. 1H-NMR metabolite profiling of feces as a tool to assess the impact of nutrition on the human microbiome. *NMR Biomed.* 2008; 21:615-26.
- Kinross J, Von Roon AC, Penney N, Holmes E, Silk D, Nicholson JK, et al. The gut microbiota as a target for improved surgical outcome and improved patient care. *Curr Pharm Des.* 2009; 15(13):1537-45.
- Koek MM, Muilwijk B, Van Stee LL, Hankemeier T. Higher mass loadability in comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry for improved analytical performance in metabolomics analysis. *J Chromatogr A.* 2008; 4(1-2):420-9.
- Kuhl J, Moritz T, Wagner H, Stenlund H, Lundgren K, Bavenholm P et al. Metabolomics as a tool to evaluate exercise-induced improvements in insulin sensitivity. *Metabolomics* 2008; 4:273-82.
- Kussmann M, Raymond F, Affolter M. OMICS-driven biomarker discovery in nutrition and health. *J Biotechnol.* 2006; 124(4):758-87.
- Lankinen M, Schwab U, Erkkilä A, Seppänen-Laakso T, Hannila ML, Mussalo H, Lehto S et al. Fatty fish intake decreases lipids related to inflammation and insulin signaling--a lipidomics approach. *PLoS One.* 2009; 4(4):e5258.
- Lankinen M, Schwab U, Gopalacharyulu PV, Seppänen-Laakso T, Yetukuri L, Sysi-Aho M, Kallio P et al. Dietary carbohydrate modification alters serum metabolic profiles in individuals with the metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010; 20(4):249-57.
- Lenz EM, Bright J, Wilson ID, Hughes A, Morrisson J, Lindberg H, Lockton A. Metabolomics, dietary influences and cultural diffe-

- rences: a <sup>1</sup>H NMR-based study of urine samples obtained from healthy British and Swedish subjects. *J Pharm Biomed Anal.* 2004; 36(4):841-9.
- Lodge JK. Symposium 2: Modern approaches to nutritional research challenges: Targeted and non-targeted approaches for metabolite profiling in nutritional research. *Proc Nutr Soc.* 2010; 69(1):95-102.
- Martin FP, Dumas ME, Wang Y, Legido-Quigley C, Yap IK, Tang H, Zirah S, Murphy GM, Cloarec O, Lindon JC, Sprenger N, Fay LB, Kochhar S, van Bladeren P, Holmes E, Nicholson JK. A top-down systems biology view of microbiome-mammalian metabolic interactions in a mouse model. *Mol Syst Biol.* 2007; 3:112.
- Mattila I, Seppänen-Laakso T, Suortti T, Oresic M. Application of lipidomics and metabolomics to the study of adipose tissue. *Methods Mol Biol.* 2008; 456:123-30.
- Moco S, Vervoort J, Bino RJ, De Vos, R. Metabolomics technologies and metabolite identification. *Trends Anal Chem.* 2007; 26(9):855-66.
- Oresic M. Metabolomics, a novel tool for studies of nutrition, metabolism and lipid dysfunction. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2009; 19(11):816-24.
- Oresic M, Simell S, Sysi-Aho M, Näntö-Salonen K, Seppänen-Laakso T, Parikka V et al. Dysregulation of lipid and amino acid metabolism precedes islet autoimmunity in children who later progress to type 1 diabetes. *J Exp Med.* 2008; 205(13):2.975-84.
- Rezzi S, Ramadan Z, Fay LB, Kochhar S. Nutritional metabolomics: applications and perspectives. *J Proteome Res.* 2007; 6(2): 513-25.
- Rezzi S, Ramadan Z, Martin FP, Fay LB, Van Bladeren P, Lindon JC, Nicholson JK, Kochhar S. Human metabolic phenotypes link directly to specific dietary preferences in healthy individuals. *J Proteome Res.* 2007; 6(11):4.469-77.
- Rist MJ, Wenzel U, Daniel H. Nutrition and food science go genomic. *Trends in Biotechnology.* 2006; 24(4):172-8.
- Scalbert A, Brennan L, Fiehn O, Hankemeier T, Kristal BS, Van Ommen B, Pujos-Guillot E, Verheij E, Wishart D, Wopereis S. Mass-spectrometry-based metabolomics: limitations and recommendations for future progress with particular focus on nutrition research. *Metabolomics.* 2009; 5(4):435-58.
- Shaham O, Wei R, Wang TJ, Ricciardi C, Lewis GD, Vasan RS, Carr SA, Thadhani R, Gerszten RE, Mootha VK. Metabolic profiling of the human response to a glucose challenge reveals distinct axes of insulin sensitivity. *Mol Syst Biol.* 2008; 4:214.
- Shen Q, Li X, Qiu Y, Su M, Liu Y, Li H et al., Metabonomic and metabolomic profiling in the amniotic fluid of malnourished pregnant rats. *J Proteome Res.* 2008; 7:2.151-7.
- Solanky KS, Bailey NJ, Beckwith-Hall BM, Bingham S, Davis A, Holmes E, Nicholson JK, Cassidy A. Biofluid <sup>1</sup>H NMR-based metabolomic techniques in nutrition research- metabolic effects of dietary isoflavones in humans. *J Nutr Biochem.* 2005; 16(4):236-44.
- Solanky KS, Bailey NJ, Beckwith-Hall BM, Davis A, Bingham S, Holmes E, Nicholson JK, Cassidy A. Application of biofluid <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance-based metabolomic techniques for the analysis of the biochemical effects of dietary isoflavones on human plasma profile. *Anal Biochem.* 2003; 323(2):197-204.
- Stella C, Beckwith-Hall B, Cloarec O, Holmes E, Lindon JC, Powell J, Van der Ouderaa F, Bingham S, Cross AJ, Nicholson JK. Susceptibility of human metabolic phenotypes to dietary modulation. *J Proteome Res.* 2006; 5(10):2.780-8.
- Tang J, Tan CY, Oresic M, Vidal-Puig A. Integrating post-genomic approaches as a strategy to advance our understanding of health and disease. *Genome Med.* 2009; 1(3):35.
- Tsai F, Coyle WJ. The microbiome and obesity: is obesity linked to our gut flora? *Curr Gastroenterol Rep.* 2009; 11(4):307-13.
- Turnbaugh PJ, Gordon JL. The core gut microbiome, energy balance and obesity. *J Physiol.* 2009; 1:4.153-8.

- Van Dorsten FA, Daykin CA, Mulder TP, Van Duynhoven JP. Metabonomics Approach To Determine Metabolic Differences between Green Tea and Black Tea Consumption. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54:6929-38.
- Van Dorsten FA, Grun C, Van Velzen E, Jacobs DM, Draijer R, Van Duynhoven JP. The metabolic fate of red wine and grape juice polyphenols in humans assessed by metabolomics. *Mol. Nutr. Food Res.* 2010; 54:1-12.
- Van Ommen B, Keijer J, Kleemann R, Elliott R, Drevon CA, McArdle H, et al. The challenges for molecular nutrition research 2: quantification of the nutritional phenotype. *Genes Nutr.* 2008; 3(2):51-9.
- Waldram A, Holmes E, Wang Y, Rantalainen M, Wilson ID, Tuohy KM, et al. Top-down systems biology modeling of host metabolite-microbiome associations in obese rodents. *J Proteome Res.* 2009; 8(5):2.361-75.
- Walsh MC, Brennan L, Malthouse JP, Roche HM, Gibney MJ. Effect of acute dietary standardization on the urinary, plasma, and salivary metabolomic profiles of healthy humans. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84(3):531-9.
- Walsh MC, Brennan L, Pujos-Guillot E, Sébédio JL, Scalbert A, Fagan A, Higgins DG, Gibney MJ. Influence of acute phytochemical intake on human urinary metabolomic profiles. *Am J Clin Nutr.* 2007; 86(6):1.687-93.
- Wang Y, Tang H, Nicholson JK et al. A metabolomic strategy for the detection of the metabolic effects of chamomile (*Matricaria recutita* L) ingestion. *J Agric Food Chem.* 2005; 53:191-6.
- Westerhuis JA, Van Velzen EJ, Hoefsloot HC, Smilde AK. Multivariate paired data analysis: multilevel PLS-DA versus OPLS-DA. *Metabolomics.* 2010; 6(1):119-28.
- Xu J, Yang S, Cai S, Dong J, Li X, Chen Z. Identification of biochemical changes in lacto-vegetarian urine using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and pattern recognition. *Anal Bioanal Chem.* 2010; 396(4):1.451-63.
- Yang WC, Sedlak M, Regnier FE, Mosier N, Ho N, Adamec J. Simultaneous quantification of metabolites involved in central carbon and energy metabolism using reversed-phase liquid chromatography-mass spectrometry and in vitro <sup>13</sup>C labeling. *Anal Chem.* 2008; 15(24):9.508-16.
- Young SP, Wallace GR. Metabolomic analysis of human disease and its application to the eye. *J Ocul Biol Dis Infor.* 2009; 2(4):235-42.
- Zvikovic AM, German JB. Metabolomics for assessment of nutritional status. *Curr Opin Nutr Metab Care* 2009; 12:501-7.



# JORNADA

SOBRE

## CONDICIONANTES FISIOPATOLÓGICOS Y NUTRICIONALES DE LA ANEMIA FERROPÉNICA

16 DE JUNIO DE 2010



# El déficit de hierro

Ángel F. Remacha Sevilla. Jefe del Servicio de Hematología del Complejo Hospitalario de Toledo.

## Concepto

El hierro (Fe) debe mantener un balance entre las necesidades y la incorporación de ese principio. Una alteración de ese balance lleva a un déficit de Fe, cuya principal manifestación clínica es la presencia de una anemia ferropénica (AF). Como se desprende de lo anterior, antes de llegar a la AF deben pasarse una serie de etapas (disminución de Fe en depósitos, eritropoyesis ferropénica).

## Fisiología del metabolismo del Fe (1-5)

El Fe en solución existe en dos formas el  $Fe^{2+}$  y el  $Fe^{3+}$ , el primero puede donar electrones y el segundo aceptarlos. Esta reacción tan simple está en la base de la vida, pero no está exenta de problemas; la carencia de Fe impide estas reacciones y el exceso la aparición de radicales libres causantes de daño peroxidativo celular.

## Distribución del Fe (figura 1)

El Fe está en una concentración de 45 a 55 mg/kg de peso, el 60-70% en forma de Hb, el 10% en otras hemoproteínas (mioglobina, citocromos, etc.) y el resto (20-30%), en los depósitos unido a la ferritina (Ft). Sólo un 1% (unos 3 mg) se encuentra unido a la transferrina (Tf), pero

al ser el *pool* dinámico más importante (*turnover* diario de 30 mg/d) es vital.

Ese Fe transportado por la Tf se une a su receptor celular, una vez en el interior de la célula es liberado y se incorpora a las proteínas que usan este metal o bien a la Ft, donde se acumula. Existe una pequeña pérdida diaria, por la descamación, orina, etc., que ha de ser compensada por la ingesta.

## Absorción del Fe (figura 1)

El Fe de los alimentos se absorbe a nivel del intestino delgado. Funcionalmente hay dos vías de absorción diferenciadas, la del Fe heme y la Fe no-heme. Desde hace años se conoce que la absorción intestinal está regulada por el nivel de hepcidina.

En la primera etapa (membrana apical) el Nramp2 (sinónimos: MDT1 o DCT1) transporta el Fe y probablemente otros metales bivalentes. En el paso del Fe desde la membrana basolateral del enterocito al plasma hay implicadas dos proteínas: la ferroportina (sinónimos: SLC11A3, Ireg1) que es una proteína transmembrana que transporta el Fe del interior del enterocito al plasma, pero como es  $Fe^{2+}$  debe oxidarse a  $Fe^{3+}$ ; el proceso de oxidación precisa de una cuproproteína, la hephaestina, que posee una gran similitud con la ceruloplasmina, pero que sólo actúa a nivel intestinal.

### El transporte plasmático del Fe (figura 1)

Aunque escaso, el Fe plasmático es funcionalmente muy importante, al ser la vía de comunicación de todos los compartimentos férricos. La mayor parte del Fe se transporta por Tf, esta molécula puede transportar 1, 2 o ninguna molécula del  $Fe^{3+}$ ; usualmente el 30% de la Tf se encuentra saturada por Fe.

rada al Rctf en la superficie celular, después se internaliza el complejo Rctf-Tf-Fe formando los siderosomas. La Tf libera el Fe al pH más ácido del citoplasma (pH 5,3), ese Fe liberado formará parte del pool-lábil intracelular que se usará por las diferentes moléculas celulares (en la mitocondria, ferritina). El Nramp2 es la molécula encargada de la extracción del Fe desde el siderosoma.

### Captación celular del Fe

Se realiza mediante la interacción Tf-Rctf. Es el mecanismo por el cual las células adquieren Fe desde el plasma. Consta de varias fases: inicialmente se une la Tf saturada

### El proceso del Fe intracelular

En el interior de la célula el Fe es almacenado en forma de ferritina o bien es incorporado a las hemoproteínas (hemoglobina, mioglobina, citocromos, etc.) o a enzimas

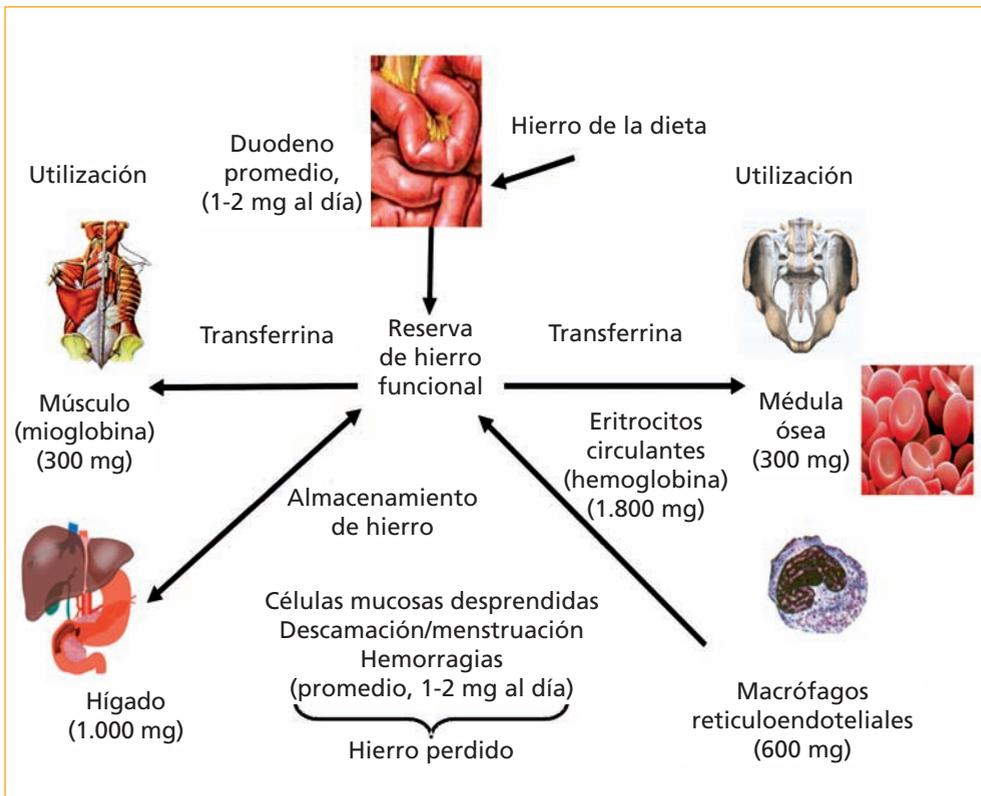


Figura 1. Distribución y almacenamiento del Fe corporal.

que poseen cluster Fe-S (aconitasa, etc.) implicadas en la cadena respiratoria mitocondrial u otros grupos (Fe-Ni), dando lugar al denominado *ciclo mitocondrial* del Fe. En el ciclo mitocondrial del Fe hay dos vías importantes, la formación de heme, que es regulada por la enzima delta-aminolevulínico sintetasa (ALAS), y de los grupos Fe-S, que es regulada por la frataxina.

### El almacenamiento de Fe

Se realiza mediante una proteína de depósito, la ferritina (Ft). La molécula de Ft es un multipolímero de 24 subunidades de cadenas ligeras (Ft L) y pesadas (Ft H) que es capaz de almacenar en su core hasta 4.000 moléculas de  $\text{Fe}^{3+}$  en forma de  $\text{Fe}^{3+}$ -oxihidroxifosfato. El  $\text{Fe}^{2+}$  penetra por vía de los canales de la Ft y debe oxidarse  $3+$  para almacenarse; la Ft H con actividad ferrioxidasa se encarga del proceso, mientras que la Ft L es la nucleadora del Fe en su core. Las células del sistema reticuloendotelial y los hepatocitos son las encargadas de almacenar el Fe. El sistema reticuloendo-

telial obtiene el Fe fundamentalmente al reciclar el Fe del grupo heme que se libera después de la eritrofagocitosis (reutilización del Fe); en cambio, el hepatocito obtiene el Fe fundamentalmente por la vía plasmática (vía unión Tf-RcTf).

### Liberación del Fe desde los depósitos

El Fe acumulado en los macrófagos y hepatocitos es liberado desde la Ft, el paso al torrente sanguíneo es muy similar al de la membrana basolateral de la célula intestinal y se hace a través de la ferroportina. Este  $\text{Fe}^{2+}$  ha de oxidarse a  $\text{Fe}^{3+}$  antes de unirse a la proteína de transporte transferrina, esta actividad ferrioxidasa la realiza la ceruloplasmina.

### Interrelación entre los diferentes compartimentos del Fe

El complejo sistema de compartimentalización del Fe se pone en comunicación mediante la transferrina, la proteína plasmática transportadora de Fe, y está finamente regulado por la hepcidina (figura 2).

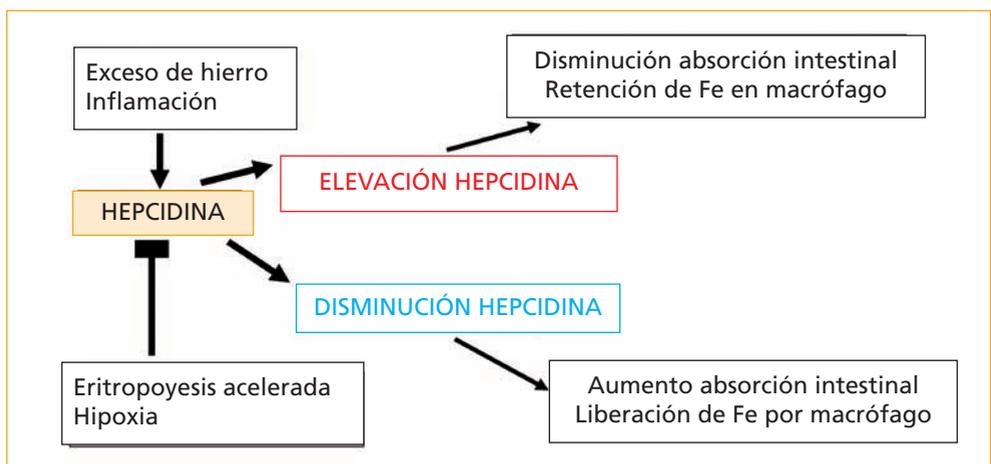


Figura 2. La hepcidina y sus estímulos reguladores en el metabolismo férrico.

## El papel de la hepcidina en la homeostasis férrica (figura 2)

Los estudios de la última década y media han puesto de manifiesto en qué consisten muchos de los mecanismos que regulan la homeostasis férrica. Una veintena de nuevas proteínas se han implicado en este metabolismo, aunque todos los estudios convergen en el papel central de la hepcidina en la regulación del metabolismo férrico (5, 6).

Desde el descubrimiento de la hepcidina en 2001 por Nicolas *et al.* (7, 8), un péptido de síntesis hepática, numerosos trabajos han puesto de manifiesto que juega un papel clave en la regulación de la homeostasis férrica. La hepcidina es un reactante de fase aguda, que se eleva como respuesta al incremento de IL-6. Su diana es la ferroportina, una proteína exportadora de hierro, que se encuentra en el enterocito duodenal, macrófagos y hepatocitos. La unión a la hepcidina induce la degradación de la ferroportina, el resultado es una menor absorción duodenal y una menor liberación de Fe por el macrófago (9). La ferroportina se considera funcionalmente como el receptor de la hepcidina (10).

El contenido de hierro en depósito se controla a nivel de la absorción intestinal, ya que no hay un mecanismo de excreción de hierro. Cuando hay una falta de hierro se produce un aumento de la absorción y cuando hay un exceso de hierro esta absorción disminuye (8, 11). Esto es lo que se denominó la señal reguladora de los depósitos de hierro (*stores regulator*) (12). Sin embargo, se han identificado otros tres estímulos, que son: la actividad eritropoyética medular (*erythropoietic regula-*

*tor*), la hipoxia y la inflamación. Los estímulos derivados de la hipoxia (13) y la eritropoyesis acelerada (12) aumentan la absorción de hierro, mientras que los derivados del exceso de hierro (12) y la inflamación (14) disminuyen la absorción férrica. En muchas situaciones, en realidad, existe una mezcla de dos o más de estos estímulos, a veces, antagonicos.

En consecuencia, la elevación de hepcidina produce una disminución de la absorción de Fe a nivel intestinal y un secuestro del hierro en el macrófago, con lo que la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis —y para otras cadenas metabólicas— disminuye. Es decir, la elevación persistente de hepcidina provoca déficit de hierro (15).

Por el contrario, la eritropoyesis acelerada y la hipoxia disminuyen la producción de hepcidina, aumentando la absorción de hierro a nivel intestinal y facilitando la liberación de hierro macrofágico (16). Es decir, hay una “competencia” reguladora entre los diferentes estímulos (figura 2), que se efectúa a nivel del control genético de la producción de hepcidina. Se ha podido comprobar que el estímulo más potente es el estímulo eritropoyético (cuyo paradigma sería el estímulo por la Epo) (16).

Estos datos explicarían las diferencias en las concentraciones de hepcidina y su producción hepática en pacientes con anemia de tipo crónico (ATC) (elevada la hepcidina), anemia ferropénica (disminuida) y anemia mixta ferropénica-inflamatoria (valores intermedios de hepcidina), lo que explicaría la presencia de una absorción intestinal de Fe en estos casos con anemia mixta (17).

Es decir, en una situación teórica de anemia se ponen en marcha varios mecanismos que tienden a disminuir a la hepcidina:

- La anemia provoca hipoxia que induce disminución de la hepcidina.
- La anemia provoca una eritropoyesis aumentada que disminuye la hepcidina (18,19).

## Epidemiología

La patología del Fe es la más frecuente en la humanidad, los datos de los organismos oficiales identifican algunos segmentos de la población con más riesgo. Entre ellos están los niños (40-60% con déficit), las gestantes (50-100%) y las mujeres en edad gestacional (20-80%). Debemos distinguir claramente entre los países en vías de desarrollo y los países desarrollados, donde las cifras son importantes, pero circunscritas a grupos poblacionales (20).

En los países desarrollados, un 10% de las mujeres en edad gestacional presentan ferropenia. Un 25% de las embarazadas tienen déficit de Fe y un tercio de ellas AF.

En cuanto a los niños, se considera que un 5% presentan déficit, siendo más frecuente en los prematuros y en la lactancia materna exclusiva (20).

En España (21), en una muestra representativa de la población adulta, se observó que entre mayores de 50 años, un 0,9% presentaba depleción férrica (0,4% de los varones y 1% de las mujeres) y un 0,7% ferropenia (0,4% de los varones y 1% de las mujeres). Entre los que tenían 50 años o menos, el 7,9% presentaba depleción férrica (1% de los varones y 14,8% de las mujeres).

## Etiología y patogenia (3, 4, 20, 22, 23).

### Etiología (tabla 1)

El déficit se debe a un balance negativo de esta sustancia.

### Inadecuada ingesta de hierro

Un hombre precisa entre 1 y 3 mg/d. En la mujer y en los periodos de crecimiento las necesidades son de dos a cinco veces

**Tabla 1. Causas de la deficiencia de hierro.**

#### Balance negativo:

Disminución de la ingesta.

Malabsorción.

#### Aumento de los requerimientos:

Embarazo.

Lactancia.

Infancia.

Crecimiento.

#### Aumento de las pérdidas:

##### Digestivas:

Gastroesofágicas.

Intestino delgado.

Colon.

Recto.

##### Ginecológicas.

##### Renales:

Hematuria.

Hemoglobinuria.

##### Respiratorias:

Hemoptisis.

#### Flebotomías:

Donación.

Nosocomial.

Autoinducidas.

Terapéuticos (P. Vera).

mayores. La *malabsorción* de hierro puede provocar ferropenia (por patología gástrica con hipo o aclorhidria gástrica o enfermedad intestinal, como la celiacía).

### Pérdidas excesivas de Fe

Según su localización anatómica, tenemos: Las pérdidas *ginecológicas*, especialmente la hipermenorrea.

Las pérdidas *digestivas* se deben a diferentes causas (ulcus, neoplasias de tubo digestivo); hay que recordar algunas difíciles de valorar:

- La ingesta de antiinflamatorios no esteroideos.
- La hernia de hiatus.
- Las hemorroides.
- Las pérdidas hemorrágicas por intestino delgado.
- La presencia de *Helicobacter pilori*.

Entre las *causas de pérdidas no digestivas*, están la hemodonación, la hemoglobinuria asociada a la hemólisis (valvulares), las pérdidas urinarias o pulmonares y, por último, en caso de lesiones autoinducidas (anemia ficticia).

### Incremento de las demandas

Hay tres circunstancias fisiológicas: el crecimiento, la lactancia y el embarazo.

Situaciones no fisiológicas: déficits de vitamina B12 y/o folato, y los síndromes mieloproliferativos y el tratamiento con eritropoyetina (déficit funcional de hierro).

### Clínica (3, 4, 20, 22, 23)

La clínica del déficit de hierro viene marcada por: el síndrome anémico, la causa de la ferropénica y otras manifestaciones de la ferropenia (tabla 2).

**Tabla 2. Clínicas de la ferropenia.**

#### Motivo de consulta:

Síndrome anémico.

Causa de la ferropenia.

Hallazgo casual.

#### Manifestaciones clínicas:

##### Síndrome anémico:

Hb < 80g/l > 80% tienen clínica.

Hb 80 y 120 g/l: no hay relación entre clínica y grado de anemia.

Estado ferrodeficitario: astenia.

**Síntomas musculares:** Disminución de la capacidad de trabajo.

##### Síntomas neurológicos:

Trastornos comportamiento, desarrollo y escolarización (niños).

Pica.

##### Epiteliales:

Boca: glositis. Estomatitis angular,

Faringe-esófago: disfagia.

Estómago: gastritis (75% casos).

*H. pilori*. Anemia perniciosa (7%).

##### Inmunidad:

Disminución resistencia a la infección *in vivo* (?).

Alteraciones inmunidad celular *in vitro*.

##### Esplenomegalia: (10%).

**Alteraciones esqueléticas:** en niños, si la anemia ferropénica es prolongada.

El síndrome anémico se caracteriza por astenia, disnea y palidez de piel y mucosas. Sin embargo, existe una correlación mala entre clínica y grado de anemia.

La causa de la anemia puede condicionar la clínica, como en el caso de un ulcus o una neoplasia digestiva.

Otras manifestaciones de la ferropénica: La anemia en el embarazo provoca embarazos pretérmino, bajo peso del recién nacido y aumento de la mortalidad perinatal. Aunque los hijos al nacer presentan escasas evidencias de déficit de Fe, sin embargo, pueden presentar una anemia ferropénica en relación con el bajo peso y la prematuridad.

En los niños, la anemia ferropénica se ha asociado a trastornos del comportamiento psicomotor y de la función cognitiva. Las alteraciones de las mucosas, como la glositis, la caída del cabello, las rágades y la coiloniquia.

Por último, la pica.

Un segundo aspecto clínico fundamental es que los tests de laboratorio son esenciales, dado que los síntomas clínicos son inespecíficos o difíciles de detectar. Se considera anemia leve entre 100 y 120 g/l de Hb, moderada entre 70 y 100 y grave < 70 g/l (24).

## Diagnóstico y diagnóstico diferencial del déficit de Fe

Diferenciaremos: las pruebas de laboratorio, la clasificación de los estadios del déficit el diagnóstico diferencial, las anemias mixtas y el estudio de la causa de la anemia.

### Diagnóstico por el laboratorio (3, 4)

Las pruebas imprescindibles serán el hemograma completo y el estudio del metabolismo férrico: la sideremia, la capacidad total de transporte y el índice de saturación. Otras pruebas relevantes son: la ferritina sérica (Fts), que valora los depósitos de hierro, el receptor soluble de la transferrina (RcTf), los test de absorción de hierro, la protoporfirina eri-

trocitaria, la valoración del hierro en algunos órganos, etc.

El nivel de Fts que define una ferropenia aceptado es < 12  $\mu\text{g/l}$  o bien si la Hb es baja y la Fts es < 20  $\mu\text{g/l}$  (24).

La situación más difícil es la valoración de la Fts en la zona gris entre 20-100  $\mu\text{g/l}$ , en esta zona es de gran utilidad la valoración del RcTf (25).

### Estadios del déficit de hierro

Se distinguen: *el déficit latente de hierro*, en el que hay una falta de hierro en los depósitos (disminución de la Fts y el resto de parámetros normales), *la eritropoyesis ferropénica* (disminución de la Fts, disminución de la sideremia, elevación de la capacidad total de transporte y disminución de la saturación de la transferrina; en el hemograma la Hb todavía es normal, y la AF donde, además de lo anterior, existe anemia (3, 4, 21, 23) (tabla 3).

Tabla 3. Estadios del déficit de Fe.

	Normal	SFD	EFP	AF
Fe				
SM	2+	0	0	0
Hb	N	N	N	D
VCM	N	N	N-D	D
CAP	N	N-A	A	A
SAT	N	N-D	D	D
Fts	N	D	D	D
RcTf	N	N-A	A	A
Depósito				
Hemático				

Fe SM: Fe en sistema macrofágico.

PPE: protoporfirina eritrocitaria. SFD: estado ferrodéficitario. EFP: eritropoyesis ferropénica. AF: anemia ferropénica.

N. Normal. A. Aumentado. D. Disminuido.

Se deben tener en cuenta los valores que miden la hemoglobinización de los reticulocitos (CHr y Ret-He), pues la presencia de reticulocitos hipocrómicos (disminución de CHr y Ret-He) sugiere la presencia de ferropenia. Así, se ha objetivado que si una anemia tiene cifras normales de esas variables en ningún caso se detecta ferropenia. Es decir, en caso de anemia el CHr o Ret-He nos puede orientar en el diagnóstico y en el tratamiento. Además, sin anemia la disminución de esas variables sugiere ferropenia (26, 27, 28).

En cuanto al receptor soluble de la transferrina su elevación sugiere ferropenia, lo mismo que su derivado, el cociente ferritina/receptor soluble de la transferrina (26, 27, 28)

**Diagnóstico diferencial (2, 3, 20, 23, 24) (tabla 4).**

Fundamentalmente hay que hacerlo con la anemia de la inflamación o de anemia de tipo crónico y con las talasemias.

**Tabla 4. Diagnóstico diferencial de las anemias microcíticas.**

	Anemia ferropénica	Talasemia minor	Anemia inflamatoria
Hb	D	N-D	D
VCM	D	D	N
England	Positivo	Negativo	Positivo
SID/CAP/SAT	D/A/D	N/N/N	D/D/N-D
Fts	D	N-A	A
RCTF	A	N-A	N
Hemo-globinas	N	Alteradas	N

Hb: hemoglobina. VCM: volumen corpuscular medio. England: índice de England. SID/CAP/SAT: sideremia; capacidad total de transporte de hierro; índice de saturación. Ft/RCTF: ferritina sérica/receptor de la transferrina. N. Normal. A. Aumentado. D. Disminuido

Es muy importante recalcar que una disminución de la sideremia puede observarse tanto en las anemias ferropénicas como en las inflamatorias. La consecuencia inmediata es la importancia de hacer el bloque férrico en conjunto.

El aspecto importante es diferenciarla de una talasemia; como exploración inicial hay algunos índices basados en los datos del hemograma y en la pseudopolioglobulia microcítica que existe en la talasemia.

Índice de England-Fraser:  $VCM \text{ en fl} - (Hb \text{ en g/dl} \times 5 + \text{número de hematíes} \times 1012 / + 8)$ . Si este índice es negativo indica talasemia. Existen otros índices en general con sensibilidades superiores al 90%.

**Las anemias mixtas (2, 3, 20, 23, 24)**

Son frecuentes; así, más de un 10% de anemias perniciosas tienen un déficit de hierro asociado; en la malabsorción suelen afectarse varias vitaminas; la anemia que acompaña a los procesos inflamatorios crónicos (artritis reumatoide) puede ser muchas veces mixta, con rasgos de inflamatoria y ferropénica y, por último, no es infrecuente encontrar una ferropenia en pacientes con talasemia.

**Estudio de la causa de la anemia (2, 3, 20, 23, 24)**

No podemos limitarnos a dar un tratamiento, se ha de buscar su causa. La anamnesis nos orientará.

Si nos encontramos con una situación muy prevalente (hernia de hiatus, hemorroides, hipermenorrea), se debe valorar cuidadosamente si hay que realizar más exploraciones etiológicas.

Ante una AF de causa no aclarada o con alguna de las etiologías anteriores en varones y mujeres postmenopáusicas, se debe descartar otras causas asociadas más graves (cáncer de colon, por ejemplo).

Si la causa persiste, hemos de considerar la ferropenia como una enfermedad crónica (ejemplo, la anemia ferropénica por hipermenorrea).

## Tratamiento del déficit de hierro (2, 3, 29) (tabla 5)

Se tratarán: los aspectos dietéticos, los tipos de tratamiento y la profilaxis.

**Tabla 5. Esquema de tratamiento con hierro.**

### Vía oral. De elección

Dosis: Si Hb > 90 g/l 30-100 mg/d de hierro como sal ferrosa.

Si Hb < 90 g/l 100-200 mg/d.

Intolerancia digestiva: Disminuir la dosis.

Fracaso de la vía oral:

Diagnóstico incorrecto de la anemia.

No efectuar el tratamiento.

Intolerancia digestiva.

Malabsorción oral.

*Helicobacter pilori*.

### Vía parenteral. Alternativo

Vía endovenosa.\*

\* Las necesidades de Fe endovenoso se calculan usando la fórmula de Ganzoni: Déficit total de hierro [mg] = peso corporal [kg] x (Hb objetivo - Hb real) [g/l] x 0,24\*\* + depósito hierro [mg].

Menos de 35 kg de peso corporal: Hb objetivo = 130 g/l y depósito hierro = 15 mg/kg peso corporal.

35 kg de peso corporal o más: Hb objetivo = 150 g/l y depósito hierro = 500 mg.

\*\* Factor 0,24 = 0,0034 x 0,07 x 1.000 (contenido de hierro de la hemoglobina ≈ 0,34%; volumen de sangre ≈ 7% del peso corporal; factor 1.000 = conversión de g a mg).

## Aspectos dietéticos del déficit de hierro

En la biodisponibilidad del Fe dietético influyen dos factores: el tipo de hierro y los inhibidores/potenciadores.

## Tratamiento con hierro

Puede administrarse por tres vías: la oral, la intramuscular y la endovenosa. La vía preferible siempre será la oral, dejando las otras dos para casos excepcionales.

El objetivo ante una AF ha de ser triple: la causa del déficit, la corrección del déficit y el relleno de los depósitos.

## Terapia oral con hierro

La terapia debe sustentarse en el hierro medicinal.

El *hierro reducido (ferroso)* se absorbe mejor; la forma común de administración es el sulfato ferroso.

Hay *fármacos que interfieren con la absorción del Fe*, como las tetraciclinas, los inhibidores de la producción de ácido clorhídrico (cimetidina, nizatitina, omeprazol) y los hidróxidos de Al o Mg. El ácido ascórbico favorece su absorción, pero intensifica los efectos colaterales. Es mejor tomar el hierro medicinal fuera de las comidas.

## Efectos colaterales

Fundamentalmente son digestivos. Por una parte tenemos la diarrea y el estreñimiento que no dependen de la dosis; en cambio, las náuseas, los vómitos y las epigastralgias, sí se relacionan con la dosis. *Los preparados protectores* y de liberación lenta mejoran la sintomatología adversa digestiva.

## Dosis y pauta de tratamiento

En adultos la dosis recomendada en la mayoría de los textos es 200 mg/d de Fe

elemental dividido en varias tomas separadas de las comidas. Las formas de liberación lenta tienen especial indicación en caso de intolerancia gástrica.

El *Institute of Medicine* recomienda valores más bajos entre 60 y 120 mg día (60 mg 1 ó 2 veces/día) (24).

### Valoración de la respuesta

Los pacientes han de seguirse hasta que se normalicen las cifras del hemograma y las del metabolismo férrico, incluida la Fts (Fts de 30 µg/l en mujeres y de 50 µg/l en hombres); sin olvidar que si la causa persiste debe considerarse como una enfermedad crónica y realizar una pauta de mantenimiento.

### Tratamiento de mantenimiento

El paradigma es la hipermenorrea; se puede dar 50-60 mg/d de hierro oral durante 7 días al mes coincidiendo con la menstruación y realizar controles a los 6-12 meses para ajustar la periodicidad del tratamiento.

### Fracaso del tratamiento oral

Puede deberse a.

- a) Un diagnóstico erróneo de la anemia.
- b) La falta de cumplimiento del tratamiento.
- c) La dosis o el tipo de hierro (formas férricas) son inadecuados.
- d) La presencia de una anemia mixta.
- e) Malabsorción del hierro.
- f) Intolerancia al hierro oral. Es sin duda la causa más frecuente de fracaso. Para corregirla se pueden intentar: disminuir la dosis, ingerir el Fe con las comidas, utilizar preparados protectores e, incluso, dar antiácidos (afectan la absorción).

g) La pérdida de sangre es tan rápida que el tratamiento oral es incapaz de conseguir un control adecuado (Rendu Osler, en la hemodiálisis o la autodonación sanguínea).

h) La falta de diagnóstico de la enfermedad causal.

### Terapia parenteral

Sus indicaciones son muy reducidas.

**El hierro-sorbitol** es de uso exclusivo intramuscular. Contiene 50 mg/ml y difunde rápidamente. Se suele administrar 100 mg en una sola inyección cada 1-3 días. Desde hace unos años no existe en España.

**El hierro-dextrano** es una suspensión coloidal de complejos Fe-dextrano. La forma comercial es de 50 mg de Fe elemental/ml, a pesar de ser la forma referenciada en casi todos los libros, pues era la forma más usada en EE.UU. y Reino Unido hasta hace poco. Previamente a su administración ha de hacerse una prueba de tolerancia, ya que puede dar reacciones anafilácticas graves.

**El hierro dextrano de bajo peso molecular** es un derivado del anterior que se puede administrar mediante perfusión intravenosa por goteo; de elección, pues ayuda a disminuir los episodios de hipotensión, o mediante una inyección intravenosa lenta. También se puede administrar como solución sin diluir, por vía intramuscular. Este fármaco ha sustituido al Fe-dextrano, pues las reacciones anafilácticas son raras.

La pauta normal de dosificación que se recomienda es de 100-200 mg de hierro, que corresponden a 2-4 ml, dos o tres veces a la semana, dependiendo del nivel de hemoglobina. No obstante, si las cir-

cunstances clínicas requieren un suministro rápido de hierro a los depósitos de hierro corporal, el Fe-dextrano de bajo peso molecular se puede administrar como perfusión total de la dosis (PTD) hasta la dosis de sustitución total correspondiente a 20 mg de hierro/kg de peso corporal. En cada administración, los primeros 25 mg de hierro se deben infundir a lo largo de un periodo de 15 minutos. Si no se producen reacciones adversas durante este tiempo, la porción restante de la infusión se debe administrar a una velocidad de perfusión no superior a 100 ml en 30 minutos. Es un Fe con amplio uso en EE.UU. y Reino Unido (29,30).

El **hierro sacarato** es un complejo de hidróxido férrico-sucrosa compuesto por un core de Fe (III) envuelto por azúcares (sacaratos) que lo protegen y lo estabilizan, recordando a la estructura de la ferritina. Se presenta en ampollas que contienen 100 mg de Fe en cada ampolla de 5 ml. Se administra endovenoso diluido. Es un hierro muy bien tolerado, del que se dispone de amplia experiencia en Europa.

La dosis total única no debe superar 200 mg de hierro, que se administrarán como máximo tres veces por semana. Si la dosis necesaria total supera la dosis máxima única permitida, entonces habrá que dividir la administración. 5 ml de Fe sacarato (100 mg de hierro) se han de diluir en un máximo de 100 ml de suero fisiológico; 10 ml de Fe-sacarato (200 mg de hierro), en un máximo de 200 ml de suero fisiológico. La dilución debe efectuarse inmediatamente antes de la perfusión y la solución deberá administrarse: 100 mg de hierro en 15 minutos como mínimo y 200 mg de hierro en 30 minutos como mínimo. Los primeros 25 mg de hierro (es decir, 25 ml de solu-

ción) deberían ser perfundidos como una dosis de prueba durante un periodo de 15 minutos (5, 29, 30).

**El Fe (III) isomaltosido (Fe-oligosacárido)** (31,32) es un Fe para administración endovenosa de última generación recientemente registrado. Es un coloide con Fe (III) unido a carbohidratos formando partículas esféricas. Cada partícula consiste en un core de Fe y un escudo de carbohidratos que lo envuelve formado por isomaltosidos. Esta estructura le confiere gran estabilidad, semejando a la ferritina, y lo protege contra la toxicidad del Fe libre. Este Fe puede administrarse una vez a la semana a la dosis de 200-1.000 mg hasta completar la dosis total de Fe necesaria. Es un Fe recientemente introducido en el mercado europeo y que puede administrarse a dosis altas.

**El Fe-carboximaltosa** (33-35) es también un Fe para administración endovenosa a altas dosis de última generación. Este fármaco fue desarrollado para superar las desventajas del hierro dextrano y del Fe-sacarato. El Fe-dextrano se asocia con efectos colaterales serios de anafilaxia. El nuevo complejo tiene una alta estabilidad similar a la del dextrano pero con un mejor perfil de tolerabilidad. Respecto al hierro sucrosa, causa menos efectos colaterales pero la aplicación era larga y circunscrita a como máximo 200 mg de hierro. Además, como tiene un peso molecular de 150 kDa, tiene mínima eliminación renal. A pH fisiológico de alrededor de 7, los hidróxidos de hierro generalmente son insolubles, sin embargo, cuando se combinan con moléculas orgánicas, tales como la carboximaltosa, ellos se pueden mantener en solución como partículas coloidales con un core de

hidróxido de Fe (III). La matriz de moléculas de hidróxido férrico proporciona una solubilidad comparable a la ferritina.

La alta estabilidad y lenta liberación de los complejos de hidróxido de hierro aseguran que la transición al sistema retículo-endotelial ocurra sin liberación de hierro iónico.

Presenta como ventajas la rapidez de su administración (200 mg en bolo o 1.000 mg en perfusión de 15 minutos). No precisa dosis de prueba.

### Efectos secundarios del Fe parenteral

La administración endovenosa puede provocar tromboflebitis o dolor en la vena; reacciones sistémicas de gravedad intermedia. Otras reacciones son graves en forma de *shock* anafiláctico o reacciones retardadas en forma de enfermedad del suero; sobre todo se han descrito con el Fe-dextrano. Con los otros tipos de Fe endovenosos las reacciones anafilácticas son raras, lo que ha aumentado su uso (4, 30, 31, 33).

### Profilaxis del déficit de hierro

La malnutrición de micronutrientes puede reducirse hasta niveles aceptables. En el caso del Fe se suelen usar cuatro medidas básicas para solventar el problema: medidas dietéticas, alimentos fortificados, suplementación en periodos de mayor necesidad y el control de algunas infecciones (36) (tabla 6).

### Ferropenia y *Helicobacter pilori*

Un aspecto importante a recordar es la relación existente entre anemia ferropénica y la presencia de *Helicobacter pilori*. Se

ha observado en estudios en adultos que cuando existe una anemia ferropénica y además existe la infección por *Helicobacter pilori*, la anemia ferropénica no responde bien al tratamiento con hierro y puede responder al tratamiento erradicador del *Helicobacter pilori* con/sin hierro concomitante. En los casos con anemia ferropénica refractaria al tratamiento se ha de investigar la presencia de *Helicobacter pilori*. Si es positivo ha de tratarse adecuadamente esta infección, pues se ha demostrado que la erradicación, conjuntamente con la suplementación férrica, corrigen estas anemias ferropénicas rebeldes al tratamiento (37, 39).

### Anemia de tipo crónico (ATC) vs. anemia ferropénica

Es una anemia en la que hay una mala utilización del hierro. La ATC presenta numerosas anomalías del metabolismo férrico que han de diferenciarse de la AF, con la que presenta similitudes (tabla 4).

En la ATC existe una mala utilización del Fe y una malabsorción del Fe intestinal. El Fe queda retenido en los macrófagos (en la ferritina) y en la célula intestinal, estas células son incapaces de liberarlo, por ello hay una eritropoyesis ferodeficitaria (sideroblastos disminuidos) y una absorción disminuida (el enterocito no lo libera a través de su membrana basolateral al plasma). Este mecanismo está mediado por proteínas implicadas en el metabolismo férrico, especialmente la hepcidina (5, 15, 39, 40).

La ATC se produce como consecuencia de los estímulos de la inflamación. En consecuencia en las situaciones de inflamación crónica (enfermedades autoinmunes,

**Tabla 6. Beneficios de los programas de control de la ferropenia.**

Grupo poblacional	Beneficios
Niños	Mejoría del comportamiento y del desarrollo cognitivo. Mejoría de la supervivencia de los niños donde la anemia es frecuente.
Adolescentes	Mejoría del desarrollo cognitivo. En las niñas, mejores depósitos de hierro para posteriores embarazos.
Embarazadas y sus hijos	Disminución de niños de bajo peso y de la mortalidad perinatal. Donde la anemia severa es común, disminuye la mortalidad materna y las complicaciones obstétricas.
Todos los individuos	Mejoría de la capacidad física y de la capacidad de trabajo. Mejoría de la capacidad cognitiva.

enfermedades infecciosas crónicas y en el cáncer), la anemia se observa frecuentemente como consecuencia de la producción de citokinas por los macrófagos y los linfocitos T, que estimularían la producción de hepcidina, lo que lleva a la malabsorción del Fe y al secuestro del hierro en los macrófagos del sistema retículo-endotelial y, por lo tanto, a la retención del hierro en esas células, ya que su liberación está impedida. Además, estas citokinas inhiben directamente la eritropoyesis y la producción de eritropoyetina (Epo) (5, 15, 39, 40).

De estos mecanismos fisiopatológicos obtenemos importantes consecuencias de cara al tratamiento de los pacientes con ATC relacionada con el cáncer:

- La inhibición de la eritropoyesis mediada por las citokinas y la producción inapropiada de Epo pueden ser compensadas por un tratamiento a dosis adecuadas de Epo.
- La mala utilización del Fe es el origen del déficit funcional de Fe. El déficit funcional de Fe es la principal causa de fracaso del tratamiento con Epo; se

solventará controlando el tratamiento y usando hierro, casi siempre, endovenoso, añadido al tratamiento con Epo en los casos con este déficit (41).

### **Déficit funcional de hierro durante el tratamiento con Epo**

Es una de las causas más frecuentes de fracaso de tratamiento con Epo en una anemia susceptible de ser tratada con Epo, como la de los pacientes en diálisis y la anemia relacionada con el cáncer. Se debe investigar periódicamente y antes de comenzar el tratamiento.

El déficit funcional de hierro representa una falta de balance entre las necesidades de hierro de la eritropoyesis, y el nivel de abastecimiento de hierro puede deberse a unos depósitos bajos de hierro o una disminución de la capacidad de movilización de ese hierro depositado, como se explicó en la fisiopatología de la ATC.

Se diagnostica por la presencia de una saturación de la transferrina < 20% y/o un aumento de hematíes hipocromos > 10%,

y debemos sospechar que se producirá cuando la cifra de ferritina antes del tratamiento sea inferior a 100 microg/l (41, 42).

Más recientemente se ha demostrado el valor diagnóstico del contenido de Hb en los reticulocitos, que reciben diferentes denominaciones dependiendo del tipo de contador celular que se use en su determinación (Ret-He, CHr). Estos parámetros descienden cuando hay una ferropenia asociada a una ATC o cuando se desarrolla un déficit funcional de Fe después del tratamiento con Epo (tabla 4). Son variables que complementan otros parámetros del metabolismo férrico, como la ferritina y el receptor soluble de la transferrina. Con todos ellos se puede realizar una clasificación diferencial de las ATC, anemias ferropénicas y formas mixtas (27, 28). Con estos parámetros se pueden elaborar unos nomogramas diagnósticos y terapéuticos dinámicos para el uso racional del hierro y de la Epo (nomogramas de Thomas) (27).

## Bibliografía

1. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med.* 1999; 341:1.986-95.
2. Andrews NC, Levy JE. Iron is hot: An uptake on the pathophysiology of hemochromatosis. *Blood.* 1998; 92:1.845-51.
3. Beck N. *Diagnostic Hematology.* Springer Verlag Eds. London. 2009.
4. Remacha A. Anemias por déficit de hierro. En: Rodes J, Guardia J. *Medicina Interna.* Vol. II, segunda edición. Masson Barcelona. 2004; 2.807-13.
5. Remacha AF, Sardá MP. Prevalencia y causas de anemia en el paciente oncológico. *Anemia.* 2009; 2:118-26.
6. Andrews NC. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood.* 2008; 112:219-30.
7. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, Vaulont S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98:8.780-5.
8. Nicolas G, Bennoun M, Porteau A, et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99:4.596-601.
9. Frazer DM, Anderson GJ. Hepcidin compared with prohepcidin: an absorbing store. *Am J Clin Nutr.* 2009; 89:475-6.
10. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, Ganz T, Kaplan J. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science.* 2004; 306:2.090-3.
11. Lesbordes-Brion JC, Viatte L, Bennoun M, Lou DQ, Ramey G, Houbroun C, Hamard G, Kahn A, Vaulont S. Targeted disruption of the hepcidin 1 gene results in severe hemochromatosis. *Blood.* 2006; 108:1.402-5.
12. Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood.* 1994; 84:1.697-1702.
13. Raja KB, Simpson RJ, Pippard MJ, Peters TJ. In vivo studies on the relationship between intestinal iron (Fe<sup>3+</sup>) absorption, hypoxia and erythropoiesis in the mouse. *Br J Haematol.* 1988; 68:373-8.
14. De Domenico I, Ward DM, Kaplan J. Hepcidin regulation: ironing out the details. *J Clin Invest.* 2007; 117:1.755-8.
15. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med.* 2005; 352:1.011-23.
16. Huang H, Constante M, Layout A, Santos MM. Contribution of STAT3 and SMAD 4 pathways to the regulation of hepcidin by opposing stimuli. *Blood.* 2009; 113:3.593-9.
17. Theurl I, Aigner E, Theurl M, Nariz M, Seifert M, Schroll A, Sonnweber T, Eberwein L, Witcher DR, Murphy AT, Wroblewski VJ, Wurz E, Datz C, Wess G. Regulation of iron homeostasis in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: diagnostic and therapeutic implications. *Blood.* 2009; 113:5.277-8.

18. Pak M, López MA, Gabayan V, Ganz T, Rivera S. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood*. 2006; 108:3.730-5.
19. Pinto JP, Ribeiro S, Pontes H, Thowfeequ S, Tosh D, Carvalho F, Porto G. Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBP alpha. *Blood*. 2008; 111:5.727-33.
20. Iron deficiency anemia. Management, prevention and control. (WHO/NHD/01.3). 2001.
21. Altés A, Ruiz MA, Castell C, Roure E, Tresserras R. Déficit y sobrecarga de hierro en la población adulta de Cataluña. *Med Clin (Barc)*. 2004;123:131-3.
22. Spivak JL. The blood in systemic disorders. *Lancet*. 2000; 355:1.707-12.
23. Cook JD, Skikne BS. Iron deficiency: definition and diagnosis. *J Intern Med*. 1989; 226: 349-55.
24. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Iron deficiency anemia: Recommended guidelines for the prevention, detection, and management among U.S. Children and Women of childbearing age. Washington D.C.: National Academy Press. 1993.
25. Remacha AF, Sarda MP, Parellada M, Ubeda J, Manteiga R. The role of serum transferrin receptor in the diagnosis of iron deficiency. *Haematologica*. 1998; 83:960-3.
26. Skikne BS. Serum transferrin receptor. *Am J Hematol*. 2008; 83:872-5.
27. Thomas C, Thomas L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chem*. 2002;48:1.066-76.
28. Canals C, Remacha AF, Sardá MP, Piazuolo JM, Royo MT, Romero MA. Clinical utility of the new Sysmex XE 2100 parameter - reticulocyte haemoglobin equivalent - in the diagnosis of anemia. *Haematologica*. 2005; 90:1.133-4.
29. NCCN (National Comprehensive Cancer Network). Clinical Practice Guidelines in Oncology, Cancer-and chemotherapy-induced anemia. V3. 2009. [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/PDF/anemia.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/anemia.pdf).
30. Del Vecchio L. Novel intravenous iron therapies. *Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine*. 2010; 11(Suppl. 2): S17.
31. Wikstrom B, Bhandary S, Barany P, et al. Monofer (iron isomaltoside 1000), a novel intravenous iron for treatment of iron deficiency in chronic kidney disease (CKD) patients. *Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine*. 2010; 11(Suppl. 2):47.
32. Hildebrandt P, Bruun NE, Nielsen OW, et al. Intravenous iron supplementation with Monofer improves quality of life assessments in patients with chronic heart failure. *Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine*. 2010; 11(Suppl. 2):47.
33. Vargas J. Carboximaltosa férrica: Avance farmacológico en Fe intravenoso. *Anemia*. 2009; 2:28-33.
34. Hildebrandt PR, Bruun NE, Nielsen OW, et al. Parenteral iron treatment improves quality of life in heart failure patients. *European Journal of Heart Failure*. 2009; 8(Suppl.): Abstract 164.
35. Lyseng-Williamson KA, Keating GM. Ferric carboximaltose: a review of its use in iron-deficiency anemia. *Drugs*. 2009; 69:739-56.
36. Rebecca J. Stoltzfus, Michele L. Dreyfuss, and the International Nutritional Anemia Consultative Group (INACG) Guide for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anemia. ILSI PRESS. 1998.
37. Annibale B, Marignani M, Monarca B, Antonelli G, Marcheggiano A, Martino G, Mandelli F, Caprilli R, Delle Fave G. Reversal of iron deficiency anemia after *Helicobacter pylori* eradication in patients with asymptomatic gastritis. *Ann Intern Med*. 1999; 131:668-72.
38. Hershko C, Ronson A. Iron deficiency, *Helicobacter* infection and gastritis. *Acta Haematol*. 2009; 122:97-102.
39. Adamson JW. The anemia of inflammatory/malignancy: mechanisms and management. *Hematology*. 2008; 159-65.

40. Schwartz RN. Anemia in patients with cancer: incidence, causes, impact, management, and use of treatment guidelines and protocols. *Am J Health Syst. Pharm.* 2007; 64:55-13.

41. Beguin Y. Prediction of response to rHuEPO. In: Bokemeyer C, Ludwig H, eds.

Anaemia in cancer. ESO updates. Amsterdam: Elsevier. 2001; 153-65.

42. Macdougall IC, Cavill I, Hulme, et al. Detection of functional iron deficiency during erythropoietin treatment: a new approach. *Br Med J.* 1992; 304:225-6.

# La nutrición en la prevención de la deficiencia de hierro

**M.<sup>a</sup> Pilar Vaquero Rodrigo.** *Departamento de Metabolismo y Nutrición, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid.*

## Resumen

La deficiencia de hierro es multifactorial, intervienen en su desarrollo la alimentación, la situación fisiológica y la carga genética del individuo.

Se han establecido las ingestas dietéticas recomendables de hierro para los distintos grupos de población. Pero además de la cantidad total del nutriente que se ingiere, es muy importante la forma en que éste se presente, hemo o no hemo (inorgánico), y el conjunto de la dieta. Así, el hierro hémico, muy abundante en productos de origen animal como las carnes rojas, es el más biodisponible, pero prácticamente el 80% del hierro de las dietas occidentales es no hémico, cuya absorción depende de muchos componentes de la dieta. El estimulante más potente de la absorción del hierro que se conoce es el ácido ascórbico y el inhibidor más importante en el contexto de nuestra dieta es el ácido fítico.

Es interesante resaltar que la manipulación de la dieta para incrementar o disminuir la absorción del hierro afectará sólo al hierro no hémico. Además, hay que tener en cuenta que para que los estimulantes o inhibidores de la biodisponibilidad del hierro sean eficaces deben actuar durante la digestión.

En este capítulo se realizará una revisión de las estrategias dietéticas que pueden

utilizarse para incrementar el estado de hierro de las personas que tienen tendencia a padecer anemia ferropénica.

Actualmente, las medidas de educación nutricional para conocer qué alimentos favorecen la absorción de hierro y cuáles la inhiben, la forma de combinarlos y el uso de alimentos enriquecidos en hierro, han demostrado su eficacia y deben promoverse. También están en marcha una serie de estudios con alimentos funcionales e investigaciones de nutrigenómica que nos ayudarán a comprender cómo hacer frente a esta deficiencia que tiene un gran impacto en la salud pública.

## Introducción

El hierro es un nutriente singular. El descubrimiento de su esencialidad es antiguo, se conocen relativamente bien sus funciones y es posible revertir la anemia ferropénica administrando hierro. Además, el metabolismo del hierro difiere del de la mayoría de los metales, en que una vez absorbido se reutiliza en el organismo, al ser captado por los macrófagos el hierro liberado en la destrucción de los glóbulos rojos. No existe un mecanismo fisiológico de excreción de hierro, de modo que en condiciones normales las pérdidas corporales se producen por descamación de la

mucosa intestinal y pequeñas pérdidas urinarias. Entonces, ¿por qué es tan prevalente la deficiencia de este micronutriente? La contestación a esta pregunta debe hacerse desde una perspectiva multifactorial, como en el caso de todas las enfermedades complejas. Influyen factores individuales, principalmente la situación fisiológica de crecimiento o gestación, las pérdidas menstruales y la coexistencia de alteraciones metabólicas diversas, y también factores del entorno. Entre los factores individuales no modificables destacan los genéticos, y entre los ambientales en esta revisión nos centraremos en la dieta.

### Concepto de biodisponibilidad

La biodisponibilidad de un componente de los alimentos se define como la proporción

del mismo que se absorbe y utiliza para las funciones normales del organismo.

Se han establecido cantidades de hierro recomendables para prevenir su deficiencia en distintos grupos de población (tabla 1). Dichas cifras, denominadas IR, IDR, RDA o RDI (Ingestas Recomendadas, Ingestas Dietéticas de Referencia, *Recommended Dietary Allowances* o *Reference Dietary Intakes*, respectivamente), indican la ingesta suficiente para alcanzar los requerimientos de la mayoría de los individuos de un grupo poblacional. Es un promedio diario para que la mayor parte de los individuos de dicho grupo disponga de la cantidad de hierro necesaria para el funcionamiento normal del organismo.

En la tabla 2 se presentan los alimentos ricos en hierro. Además de la cantidad ingerida, el factor fundamental que con-

**Tabla 1. Ingestas dietéticas de referencia de hierro para la población española (mg/día).**

Edad	Varones	Mujeres	Observaciones
0-6 meses		4,3	
7-12 meses		8,0	
1-3 años		8,0	
4-5 años		8,0	
6-9 años		9,0	
10-13 años	12	15-18	Valor superior si hay pérdidas menstruales
14-19 años	11	15-18	Valor superior si hay pérdidas menstruales
20-29 años	9,0	18	
30-39 años	9,0	18	
40-49 años	9,0	18	Antes de la menopausia
50-59 años	9,0	15	Después de la menopausia
60-69 años	10	10	
>70 años	10	10	
Embarazo		25	Segunda mitad del embarazo
Lactancia		15	Primeros 6 meses de lactancia

Adaptado de Cuervo et al. (2009) y FESNAD (2010).

**Tabla 2. Alimentos ricos en hierro.****Alimentos ricos en hierro hemo**

Alimentos de origen animal. El hierro hemo de estos alimentos es aproximadamente el 40% del hierro total que aportan:

- Carnes rojas.
- Morcilla.
- Vísceras (hígado, riñón, corazón, etc.).
- Aves.
- Productos cárnicos.

**Alimentos ricos en hierro no hemo**

Alimentos de origen vegetal. El hierro no hemo es prácticamente el 100% del hierro total que aportan:

- Leguminosas.
- Frutos secos.
- Cereales.

dición la biodisponibilidad del hierro es la forma en que éste se presenta en los alimentos, hemo y no hemo o inorgánico, siendo más biodisponible la forma hemo. El complejo hierro-porfirina se absorbe intacto, aunque no se conoce bien el mecanismo, por lo que prácticamente no interacciona con otros componentes de la dieta. Sin embargo, la forma no hémica es la más abundante en todo tipo de dietas; por ejemplo, en los países desarrollados supone aproximadamente el 80% del total de hierro ingerido. En humanos la absorción de hierro hémico es del 20 al 30% mientras que la del hierro inorgánico es inferior al 15%. Es importante resaltar que la manipulación de la dieta para incrementar o disminuir la absorción del hierro afectará sólo al hierro no hémico.

Dado que el proceso digestivo constituye el principal regulador fisiológico del hierro corporal y que una vez absorbido los mecanismos para excretarlo

son ineficaces, los componentes de los alimentos que afectan su solubilidad y transporte intestinal, modificarán su biodisponibilidad. El conocimiento de dichos factores, estimuladores o inhibidores, puede ser muy útil para las personas que tienen predisposición a padecer anemia ferropénica.

A continuación se indican los principales factores dietarios que afectan la absorción del hierro no hémico (tabla 3).

## Factores dietarios que afectan la biodisponibilidad del hierro no hémico

### Estimuladores

Se ha documentado muy bien el papel estimulante de la absorción de hierro que ejerce la vitamina C o ácido ascórbico. Este nutriente actúa por dos mecanismos a la vez: reduce el hierro a la forma Fe II, más soluble, y forma en el medio ácido del estómago un complejo ascorbato férrico muy estable, que permanece soluble al pH más alto del duodeno. Dicho complejo evita la interacción del hierro con otros componentes de la dieta. Constituye por tanto el mejor potenciador de la biodisponibilidad del hierro no hémico que se conoce.

El cocinado ocasiona importantes pérdidas de vitamina C, siendo el consumo de cítricos y vegetales crudos las principales fuentes de esta vitamina, particularmente en las dietas mediterráneas. Respecto al procesado industrial de los alimentos, la adición de una cantidad extra de ácido ascórbico compensa las pérdidas ocurridas durante el tratamiento térmico y el almacenamiento posterior.

**Tabla 3. Estimulantes e inhibidores de la biodisponibilidad de hierro.**

	Componente	Alimento	Mecanismo
<b>Estimulantes</b>	Ácido ascórbico	Cítricos Verduras	Disminución del pH intestinal Formación de un complejo soluble y estable con el hierro Reducción del hierro Fe <sup>3+</sup> a Fe <sup>2+</sup>
	Tejido animal	Carnes, Aves Pescados	Productos de la digestión se unen al hierro y favorecen su absorción
	Acidez	Ciertas frutas y bebidas	Favorece la solubilidad del hierro
	Grasa saturada y monoinsaturada	Productos cárnicos Aceite de oliva	En comparación con grasa insaturada permiten la absorción de hierro
<b>Inhibidores</b>	Fitatos	Cereales integrales Legumbres	Forman complejos insolubles con el hierro
	Polifenoles	Té, café, vino Algunas frutas, Algunos cereales y legumbres	Forman complejos generalmente solubles con el hierro, que aunque se absorban presentan baja biodisponibilidad
	Proteínas de vegetales, huevo y leche	Soja, huevo, leche, extractos proteicos	Productos de la digestión se unen al hierro y reducen su absorción
	Grasa poliinsaturada	Suplementos de poliinsaturados y $\omega$ -3	Forman complejos insolubles con el hierro
	Calcio	Productos lácteos	Reducen la absorción de hierro hemo y no hemo. Mínima repercusión en el estado del hierro si el calcio y el hierro sólo proceden de la dieta

En las dietas vegetarianas, la vitamina C es prácticamente el único estimulante de la absorción de hierro.

Los alimentos de origen animal (carne, pescado, pollo, pescado) incrementan la absorción del hierro. Se han realizado numerosos estudios para conocer el compuesto responsable y el mecanismo de acción implicado. La mayoría de ellos indica que las proteínas del tejido muscular dan lugar a una serie de péptidos durante la digestión que son capaces de reducir y quelar el hierro, manteniéndolo en una forma absorbible, mecanismo similar al del ácido ascórbico. De hecho, las proteí-

nas miofibrilares se digieren por acción de la pepsina en el estómago, donde se formarían los péptidos que captarían el hierro impidiendo su precipitación al pH superior del duodeno. Al mismo tiempo, el hierro así unido quedaría a salvo de la interacción con otros componentes de la dieta.

Es interesante que este efecto se produce independientemente del contenido de hierro de dichos alimentos. Así, el pescado, cuyo contenido en hierro es mínimo, es capaz de incrementar la absorción del hierro de una comida rica en inhibidores.

El medio ácido en el intestino favorece la absorción de los minerales en general, debido a que se mantienen en solución. Así, el hierro en forma reducida (Fe II) es más disponible que en forma oxidada (Fe III) porque es más soluble (por ejemplo, sulfato ferroso frente a sulfato férrico), no porque las células absorbivas muestren una preferencia por uno u otro estado de oxidación. La modificación de la acidez puede realizarse por la inclusión de ácidos orgánicos presentes en los alimentos naturales.

Respecto a la grasa, los ácidos grasos saturados y el aceite de oliva favorecen la absorción de hierro, mientras que la grasa más insaturada, particularmente el ácido linoleico y los omega-3, reducen la biodisponibilidad de este micronutriente.

### **Inhibidores**

Tradicionalmente se ha considerado que la fibra dietética es un inhibidor de la absorción de minerales. Sin embargo, no todos los tipos de fibra son inhibidores e incluso es preciso tener en cuenta que los alimentos integrales son ricos en minerales, por lo que el efecto global sobre la biodisponibilidad del hierro dependerá del conjunto de la dieta. Asociados a la fibra se distinguen una serie de componentes, como polifenoles y fitatos, que son capaces de captar el hierro y dificultar su absorción.

El ácido fítico (inositol hexafosfato) es un potente inhibidor de la absorción del hierro no hémico. No obstante, por determinados tratamientos culinarios o industriales (lixiviación, fermentación, germinación), este ácido pierde grupos fosfatos reduciéndose en consecuencia su capacidad de secuestrar hierro. Respecto a los polifenoles (áci-

dos fenólicos, flavonoides, polifenoles condensados), aun siendo solubles, como en el café y el té, pueden unirse al hierro fuertemente impidiendo su absorción. El té se considera el inhibidor más potente de la absorción del hierro (con variaciones dependiendo del tipo y la concentración de la infusión).

Otros minerales interaccionan con el hierro en el tracto gastrointestinal. Así, ingestas excesivas de calcio y zinc pueden reducir la biodisponibilidad del hierro interaccionando en la propia mucosa y compitiendo en la absorción. Se ha observado que el calcio es capaz de competir con el hierro hemo y no hemo, sin embargo, la repercusión de dicha interacción en dietas variadas parece poco relevante y dependerá de las cantidades de calcio y hierro que se consuman, la presencia de otros componentes interactuantes y el momento en que se consuman los alimentos ricos en calcio y en hierro.

Es importante tener en cuenta que para que los estimulantes o inhibidores de la biodisponibilidad del hierro sean eficaces deben actuar durante la digestión. Por ejemplo, para estimular la absorción deben ingerirse en la misma comida los alimentos ricos en hierro y los que aportan vitamina C (por ejemplo, lentejas y naranja) y no ingerirse en esa comida té o café, que se consumirán preferentemente entre horas.

### **Alimentos tradicionales y alimentos funcionales para prevenir la deficiencia de hierro**

Se han llevado a cabo numerosos estudios científicos, intervenciones nutricio-

nales a gran escala o ensayos clínicos aleatorizados con un control riguroso de las condiciones experimentales. En la mayoría de ellos se obtiene que las dietas habituales no aportan el promedio del valor de IR del hierro. Particularmente, nuestro grupo de investigación ha constatado que las mujeres en edad fértil, aunque son conscientes de tener riesgo de anemia, ingieren aproximadamente un 20% menos hierro del recomendado. Observamos que el consumo de una dieta rica en carnes rojas, que incluía cinco raciones a la semana de carne, sólo aportaba una media de 14 mg/día de hierro, valor alejado de los 18 mg/día correspondientes a las IR para dicha población menstruante. Teniendo en cuenta las pautas dietéticas respecto a consumo de pescado rico en omega-3, cereales, legumbres y verduras y hortalizas, parece incompatible añadir un extra de carne a la dieta, cuando precisamente el consumo de este alimento aporta grasa saturada y ésta debe limitarse para prevenir las enfermedades cardiovasculares. Es ahí donde una adecuada estrategia dietética de combinación de alimentos y el empleo de alimentos específicos ayudará a incrementar la biodisponibilidad del hierro.

Los alimentos funcionales enriquecidos en hierro pueden desempeñar un papel en la prevención de la deficiencia de hierro cuando la dieta no aporta suficiente cantidad del micronutriente o su biodisponibilidad es baja. Los alimentos funcionales ricos en hierro de buena absorción han estado entre nosotros desde el siglo xx. No obstante, añadir hierro a los alimentos constituye un reto en la tecnología de los alimentos. El hierro se oxida fácilmente, produciendo cambios en el

color y sabor de los alimentos que se pretenden fortificar. Por otro lado, el hierro libre genera radicales libres y puede deteriorar la matriz del alimento fácilmente, durante el procesado industrial o una vez producido, acortándose la vida útil. Por ello, la búsqueda de la sal de hierro ideal para enriquecer alimentos ha sido una constante a lo largo de décadas. Actualmente, la Unión Europea ha publicado una lista con las formas de hierro permitidas (tabla 4).

**Tabla 4. Formas de hierro permitidas en la fabricación de complementos alimenticios\*.**

Carbonato ferroso
Citrato ferroso
Citrato férrico de amonio
Gluconato ferroso
Fumarato ferroso
Difosfato férrico de sodio
Lactato ferroso
Sulfato ferroso
Difosfato férrico (pirofosfato férrico)
Sacarato férrico
Hierro atómico (carbonilo + electrolítico + hidrógeno reducido)

\* Directiva 2002/49/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 10 de Junio, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros en materia de complementos alimenticios.

Por tanto, es conveniente que los alimentos funcionales destinados a población con riesgo de anemia ferropénica contengan hierro biodisponible, presencia de estimuladores de su absorción y un contenido mínimo o nulo de inhibidores. Además, debe

tenerse en cuenta el aporte de hierro por ración de alimento a consumir y que dicha ración sea compatible con la dieta habitual.

Aunque se ha avanzado mucho en este terreno, es preciso comentar que no todas las formas de hierro se comportan bien en todas las matrices alimentarias. Así, nuestro grupo de investigación estudió la biodisponibilidad del pirofosfato férrico micronizado, encapsulado, incorporado a dos matrices diferentes: cacao soluble y un producto cárnico enlatado. En los estudios iniciales en animales de experimentación, se obtuvo una alta biodisponibilidad del pirofosfato férrico del producto cárnico, rico en tejido animal, mientras que ésta fue menor a la de la sal de referencia (sulfato ferroso) en el caso del cacao, probablemente por la presencia de polifenoles que interactúan en la absorción del hierro.

Recientemente, utilizando un ensayo aleatorizado doble-ciego controlado con placebo, y con determinaciones mensuales, hemos comprobado en mujeres en edad fértil con deficiencia de hierro que el pirofosfato férrico añadido a zumos de frutas es capaz de mejorar todos los indicadores hematológicos y bioquímicos del estado del hierro. Este buen comportamiento de esta sal en esta matriz alimentaria debe interpretarse por el pH ácido típico de los zumos de frutas, presencia de ácido ascórbico y ausencia de inhibidores de la biodisponibilidad del hierro.

## Consideraciones finales

El hierro es un nutriente esencial y su deficiencia constituye un problema de salud pública incluso en países desarrollados. No obstante, las medidas dietéticas para prevenir dicha deficiencia deben aplicarse

de forma individualizada, dado que la sobrecarga de hierro en tejidos, hemocromatosis y talasemia, coexisten en nuestra población con la anemia ferropénica.

Deben promoverse medidas dietéticas, particularmente centradas en la adecuada combinación de alimentos y, si es preciso, el uso de alimentos funcionales específicos en población de riesgo.

Como resumen, pueden enumerarse las siguientes pautas:

- Ingerir cantidad suficiente de hierro.
- Evitar dietas hipocalóricas si no se tiene ni obesidad ni sobrepeso, y nunca seguir dietas sin el adecuado control médico.
- Combinar en la misma comida alimentos ricos en hierro con estimulantes de su absorción (ej.: legumbre con carne y fruta cítrica).
- Separar el consumo de alimentos que contienen inhibidores de la absorción de hierro de las comidas principales, al menos 2 h (ej.: té y café entre horas).
- Evitar donar sangre si se tiene riesgo de ferropenia.
- Acudir al especialista en caso de hipermenorrea y otras hemorragias, alteraciones digestivas, alteraciones hormonales, etc., que podrían contribuir a la anemia ferropénica.

## Bibliografía recomendada

Arroyo-Pardo E, Vaquero MP. Detección de mutaciones y su implicación en estados patológicos del metabolismo del hierro. En: Vaquero MP, ed. Genética, nutrición y enfermedad. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto Tomás Pascual Sanz, Edimsa. Madrid, 2008; 147-56.

Blanco-Rojo R, Pérez-Granados AM, Toxqui L, Gómez-Vizcayno C, Delgado MA, Vaquero MP. Efficacy of a microencapsulated iron pyrophosphate-fortified fruit juice: a randomised, double-blind, placebo-controlled study in Spanish iron-deficient women. *Br J Nutr.* 2011; 105:1.652-9.

Cuervo M, Corbalán M, Baladía E, Cabrerizo L, Formiguera X, Iglesias C, Lorenzo H, Polanco I, Quiles J, Romero de Ávila MD, Russolillo G, Villarino A, Martínez AJ. Comparativa de las Ingestas Dietéticas de Referencia (IDR) de los diferentes países de la Unión Europea, de Estados Unidos (EE.UU.) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS). *Nutr Hosp.* 2009; 24:384-414.

Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FES-NAD). Ingestas dietéticas de referencia (IDR) para la población española, EUNSA, Pamplona, 2010.

Hurrell R, Egli I. Iron bioavailability and dietary referente values. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91(Suppl.):1.461S-7S.

Institute of Medicine. Iron. En: Food and Nutrition Board Institute of Medicine, ed. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academy Press. Washington, 2001; 290-393.

Navas-Carretero S, Pérez-Granados AM, Sarriá B, Vaquero MP. A comparative study of iron bioavailability from cacao supplemented with ferric pyrophosphate or ferric fumarate in rats. *Ann Nutr Metab.* 2007; 51:204-7.

Navas-Carretero S, Pérez-Granados AM, Sarriá B, Carbajal A, Pedrosa MM, Roe MA,

Fairweather-Tait SJ, Vaquero MP. Oily fish increases iron bioavailability of a phytate rich meal in young iron deficient women. *J Am Coll Nutr.* 2008; 27:96-101.

Navas-Carretero S, Pérez-Granados AM, Schoppen S, Sarriá B, Carbajal C, Vaquero MP. Iron status biomarkers in iron deficient women consuming an oily fish versus a red meat diet. *J Physiol Biochem.* 2009; 65:165-74.

Navas-Carretero S, Pérez-Granados AM, Sarriá B, Vaquero MP. Iron absorption from meat pate fortified with ferric pyrophosphate in iron-deficient women. *Nutrition.* 2009; 25:20-4.

Pérez-Granados AM, Navarro MP, Vaquero MP. The frying process. Influence on the bioavailability of dietary minerals. En: Bioavailability of minerals and minor dietary components. Metabolic and technological aspects (MP Vaquero, T García-Arias, A Carbajal, FJ Sánchez-Muniz, eds), Research Signpost, Trivadrum. 2003; 95-104.

Van Dokkum. The concept of mineral bioavailability. En: Bioavailability of minerals and minor dietary components. Metabolic and technological aspects (MP Vaquero, T García-Arias, A Carbajal, FJ Sánchez-Muniz, eds), Research Signpost, Trivadrum. 2003; 1-18.

Toxqui L, A de Piero, Courtois V, Bastida S, FJ Sánchez-Muniz, Vaquero MP. Deficiencia y sobrecarga de hierro. Implicaciones en el estado oxidativo y la salud cardiovascular. *Nutr Hosp.* 2010; 25:350-65.

Vaquero MP. Factores que intervienen en la biodisponibilidad mineral. Prevención de deficiencias. *Revista de Nutrición Práctica.* 1998; 2:15-21.

# JORNADA

SOBRE

## PAPEL DE LA GRASA DIETÉTICA EN LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS ENFERMEDADES CRÓNICAS

26 DE OCTUBRE DE 2010



# La grasa dietética en la prevención y el tratamiento de las enfermedades crónicas

**Ángel Gil Hernández.** *Catedrático del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada. Presidente de la Fundación Iberoamericana de Nutrición.*

## Introducción

La grasa dietética constituye uno de los principios inmediatos de nuestra alimentación, con varias funciones vitales que la convierten en un nutriente fundamental para el buen funcionamiento del organismo. Así, los lípidos de la dieta son una fuente de energía muy importante para el organismo; además, los ácidos grasos, el colesterol y otros lípidos complejos desempeñan una función estructural en todas las membranas celulares. Asimismo, los lípidos de la dieta son vehículo de las vitaminas liposolubles y contribuyen a la palatabilidad de los alimentos, a la saciedad y a la plenitud.

Los lípidos alimentarios están constituidos por numerosos compuestos químicos diferentes que comparten su insolubilidad en agua y solubilidad en disolventes orgánicos. Desde un punto de vista alimentario, los componentes lipídicos cualitativa y cuantitativamente más importantes y característicos son los triglicéridos (triacilgliceroles) (TG). Estos compuestos son ésteres del glicerol con ácidos grasos que tienen gran contenido energético: proporcionan alrededor de 9 kcal/g (38 kJ) frente a las 4 kcal/g (17 kJ) que originan los hidratos de carbono y las proteínas. A los triglicéridos se suele identificar propiamente como "la

grasa". A veces, esta grasa es visible para el consumidor (mantequilla, aceite o tocino, por ejemplo), pero en otras ocasiones es invisible, bien porque está mezclada con los otros componentes de los alimentos (en la leche) o porque forme parte de tejidos.

Otros lípidos alimentarios son los lípidos complejos (glicerofosfolípidos y esfingolípidos). Son moléculas con funciones estructurales y funcionales, ya que forman parte de las membranas biológicas y modulan su actividad. Además, algunos de los ácidos grasos que entran en su composición originan unos compuestos de gran actividad biológica: los eicosanoides y los docosanoides. Los lípidos complejos tienen poca importancia cualitativa y cuantitativa en cuanto a su aporte dietético.

El colesterol es otra sustancia lipídica de extraordinario interés biológico, ya que forma parte de las membranas celulares y es precursor de esteroides hormonales, ácidos biliares y vitamina D.

El alto contenido energético de los triglicéridos se ha asociado siempre con la obesidad y algunas de sus comorbilidades, como el síndrome metabólico. Asimismo, se ha prestado una atención extraordinaria al colesterol y a los diferentes tipos de ácidos grasos por su relación con las

enfermedades coronarias, el cáncer y otras enfermedades crónicas, especialmente las de base inflamatoria. Como resultado de ello, se preconiza la disminución de los altos contenidos grasos en las dietas occidentalizadas, así como el equilibrio entre grasa saturada, monoinsaturada y poliinsaturada.

El objetivo del presente capítulo es dar a conocer las bases bioquímicas, fisiológicas y los estudios epidemiológicos más importantes que relacionan a la grasa de la dieta con la etiología de las enfermedades crónicas de mayor prevalencia y cómo la utilización de proporciones adecuadas de ácidos grasos en la dieta puede contribuir a la prevención de las mismas.

### Tipos y nomenclatura de los ácidos grasos

Los ácidos grasos de interés biológico son ácidos carboxílicos de número par de áto-

mos de carbono (fundamentalmente entre 4 y 26). Son compuestos muy insolubles en agua y ricos en energía metabólica que forman parte de los TG, de los lípidos complejos y pueden esterificar el colesterol. Se pueden clasificar en cuatro grupos, de acuerdo con la longitud de su cadena:

- a) Ácidos grasos de cadena corta (4-6 carbonos).
- b) Ácidos grasos de cadena media (8-12 carbonos).
- c) Ácidos grasos de cadena larga (14-18 carbonos).
- d) Ácidos grasos de cadena muy larga (20 o más carbonos).

Existen dos clases básicas de ácidos grasos, los saturados (AGS) y los insaturados, aunque éstos últimos se clasifican a su vez dependiendo del número de insaturaciones que contengan (tabla 1). Los

**Tabla 1. Principales ácidos grasos presentes en los alimentos.**

Ácidos grasos saturados (AGS)	
Mirístico (14:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
Palmítico (16:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Esteárico (18:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI)	
Palmitoleico (16:1 n-9)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Oleico (18:1 n-9)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Ácidos grasos poliinsaturados de la serie 6 (AGPI n-6)	
Linoleico (18:2 n-6)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Araquidónico (20:4 n-6)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{CH})=\text{CH}_4(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$
Ácidos grasos poliinsaturados de la serie 3 (AGPI n-3)	
Linolénico (18:3 n-3)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH})=\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Eicosapentaenoico (20:5 n-3)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH})=\text{CH}_5(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Docosahexaenoico (22:6 n-3)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH})=\text{CH}_6(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$

ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) son moléculas hidrocarbonadas que contienen un doble enlace, que le proporciona una estructura acodada en ese punto. El principal representante es el ácido oleico (AO, *cis* 18:1 n-9) presente en casi todas las grasas animales y en algunos aceites vegetales, especialmente en el aceite de oliva, en el que puede alcanzar hasta un 80% (tabla 2). Y por otro lado, los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) contienen más de un doble enlace y, por lo tanto, estructuralmente se caracterizan por presentar varios acodamientos. La posición de los dobles enlaces se indica con la letra griega  $\omega$  o con la letra n contando desde el extremo metilo. Siguiendo esta nomenclatura, existen dos familias: los AGPI n-6 ( $\omega$ -6) y los n-3 ( $\omega$ -3). El principal ácido graso n-6 es el linoleico (LA, 18:2 n-6), ampliamente dis-

tribuido en las plantas, principalmente en los aceites de semillas vegetales como el maíz, girasol y soja. Es precursor del ácido araquidónico (AA, 20:4 n-6) sintetizado en los mamíferos y, por lo tanto, presente en los alimentos de origen animal. Por otra parte, el ácido  $\alpha$ -linolénico (LNA, 18:3 n-3) es el precursor de los AGPI n-3 de cadena larga, y predomina en plantas de hoja verde oscuro, y en los aceites de semillas de lino, colza, nueces y grosella, y en la soja. Los peces y otros animales marinos son ricos en eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) y docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3), debido a la ingesta de fitoplancton, ya que éste es una fuente excelente de AGPI n-3. La figura 1 muestra la enumeración y posición de los dobles enlaces de las tres familias o series de ácidos grasos omega-9, omega-6 y omega-3 más importantes.

**Tabla 2. Composición media en ácidos grasos en aceites comestibles.**

	AGS	AGMI (oleico)	AGPI n-6 (linoleico)
Aceite de algodón	25,9%	17,8%	51,9%
Aceite de cacahuete	16,9%	46,2%	32%
Aceite de cártamo	9,1%	12,1%	74,5%
Aceite de coco	86,5%	5,8%	1,8%
Aceite de colza	7,1%	58,9%	29,6%
Aceite de jengibre	18,8%	15,1%	61,7%
Aceite de girasol	10,3%	19,5%	65,7%
Aceite de maíz	12,7%	24,2%	58,7%
Aceite de oliva	13,5%	73,7%	8,4%
Aceite de palma	49,3%	37%	9,3%
Aceite de sésamo	14,2%	39,7%	41,7%
Aceite de soja	14,4%	23,3%	57,9%
Mantequilla	45,09%	24,12%	2,07%
Margarina normal	23,58%	30,96%	16,47%

AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados.

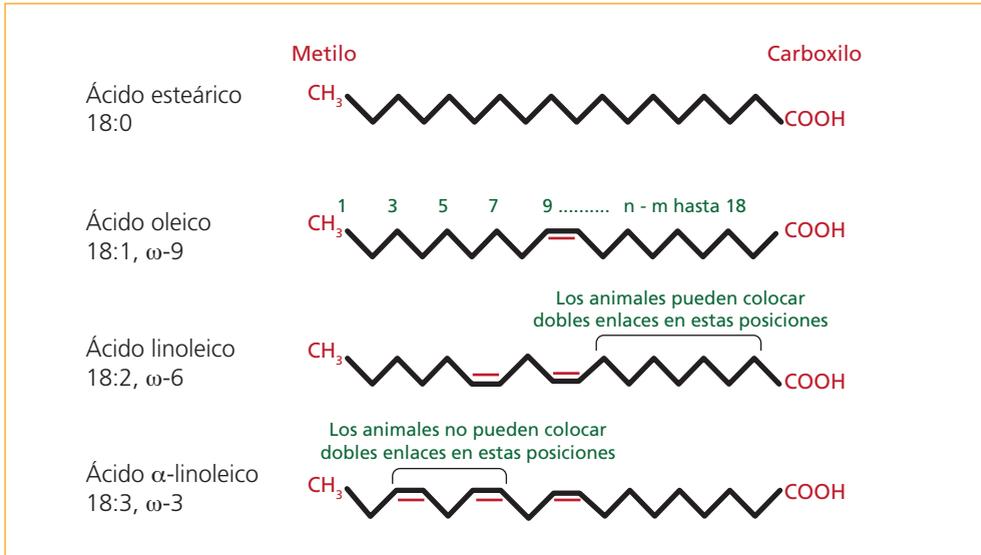


Figura 1. Enumeración y posición de los dobles enlaces de las tres familias o series de ácidos grasos omega-9, omega-6 y omega-3 más importantes. Tomada de Gil A. Tratado de Nutrición. Editorial Médica Panamericana, Madrid 2010.

## Funciones biológicas de los ácidos grasos esenciales y de sus derivados poliinsaturados

El AO, el LA y el LNA originan, por procesos enzimáticos de elongación y de desaturación, ácidos grasos de mayor tamaño de cadena y con mayor grado de insaturación, que se identifican como ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL). La transformación de los precursores (AO, LA y LNA) en AGPICL ocurre principalmente en el retículo endoplasmático celular liso (estructuras conocidas como microsomas) en una primera etapa, y posteriormente en los peroxisomas, en el caso de los derivados metabólicos de la familia omega-3. Estas transformaciones son realizadas por enzimas identificadas genéricamente como elongasas (aumentan el tamaño de la cadena hidrocarbonada) y desaturasas (introducen nuevos

dobles enlaces). El proceso de transformación más crítico es la desaturación. Los vegetales pueden desaturar ácidos grasos saturados en las posiciones omega-9, omega-6 y omega-3, por lo cual pueden biosintetizar AO, LA y LNA a partir de ácidos grasos saturados o de menor insaturación. Los animales, particularmente los vertebrados (entre ellos los mamíferos), sólo pueden introducir insaturaciones a partir del carbono omega-9 en adelante y en dirección hacia el grupo carboxilo. No pueden desaturar en las posiciones omega-6 y omega-3. Por esta razón, para los mamíferos el LA y el LNA son ácidos grasos esenciales (AGE) ya que al estar estos animales impedidos de sintetizarlos a partir de precursores de menor insaturación, deben estar presentes en la dieta en determinada cantidad y proporción entre ellos. El AO no es un ácido graso esencial para los mamíferos, ya que puede ser formado a partir

del ácido esteárico (AE, 18:0). De esto se deduce que la principal fuente de AGE para el mundo animal la constituyen los alimentos provenientes del reino vegetal. La figura 2 muestra las vías de desaturación y de elongación del AO, del LA y del LNA.

Los AGPI de cadena larga constituyen el 21-26% de los ácidos grasos en las membranas celulares, pero la proporción de ácidos grasos de 20 ó 22 átomos de carbono varía en los diferentes tejidos. Mientras que el AA está ampliamente distribuido en la mayoría de los tejidos, el DHA es más específico en su distribución: los

tejidos neuronales, como el cerebro y la retina, y algunos tejidos ajenos al sistema nervioso central presentan altas concentraciones de DHA. Esta distribución específica del DHA en los tejidos apunta hacia posibles funciones importantes de este ácido graso en esos lugares.

Los ácidos grasos n-6 y n-3 que forman parte de los fosfolípidos de membrana ejercen un control metabólico, ya que son precursores de los eicosanoides, que son liberados en cantidades muy pequeñas para actuar rápidamente en su entorno inmediato, principalmente en situaciones

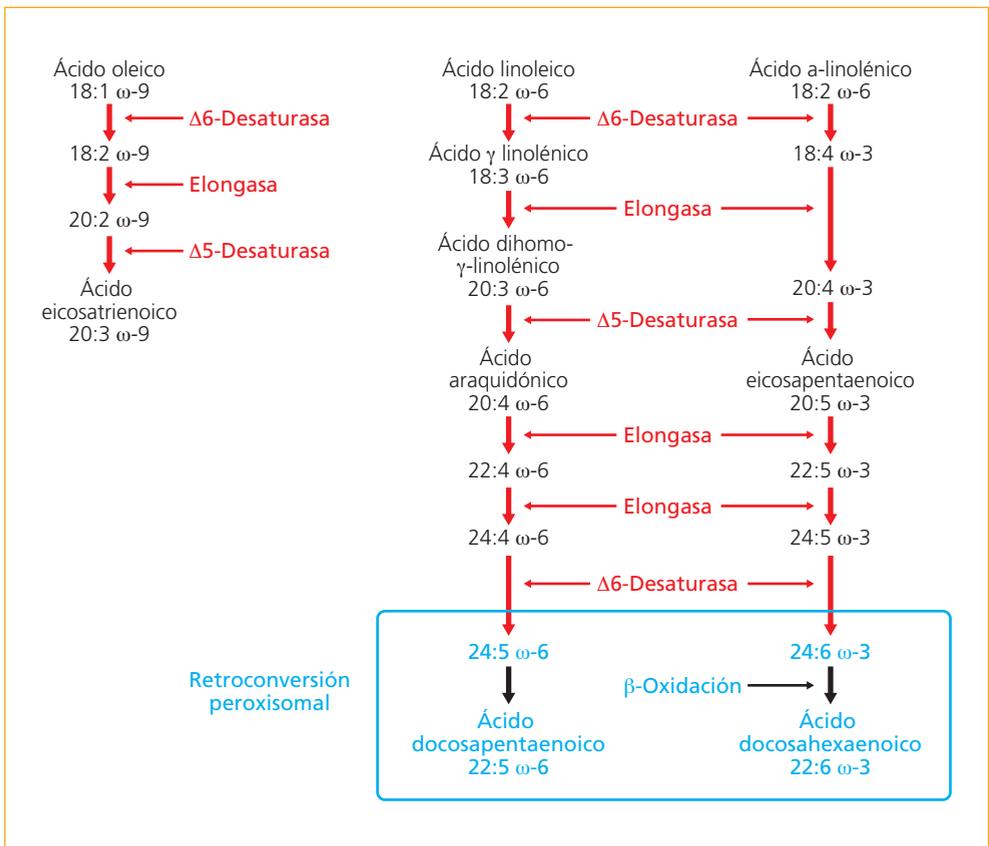


Figura 2. Vías de desaturación y de elongación del AO, LA y LNA. Tomada de Gil A. Tratado de Nutrición. Editorial Médica Panamericana, Madrid 2010.

patológicas (figura 3). Por otro lado, también son precursores de otros compuestos biológicamente activos, como algunos factores de coagulación, cuya síntesis depende de los AGPI situados en la posición 2 de los fosfolípidos, siendo estimulada por el AA y disminuida por la presencia de ácidos grasos de la serie 3. Un exceso de ácidos grasos n-6 estimula la formación de AA, precursor de prostaglandinas (PG) y otros eicosanoides implicados en los procesos inflamatorios, lo que aumenta el riesgo de sufrir artritis y otras enfermedades crónicas inflamatorias, así como distintos tipos de cáncer fre-

cuentes en las sociedades occidentales, enfermedades tromboticas, apoplejía e hiperreactividad alérgica; no obstante, el AA es absolutamente necesario para el organismo.

Aproximadamente el 95% del LA que aporta la dieta es oxidado en la mitocondria con la finalidad de obtener energía y sólo un pequeño porcentaje (5%) es transformado en AA, el principal producto metabólico de la familia omega-6. La transformación del LA en AA ocurre principalmente en el hígado, desde donde es transportado hacia los tejidos periféricos, incorporado a los fosfolípidos y a los trigli-

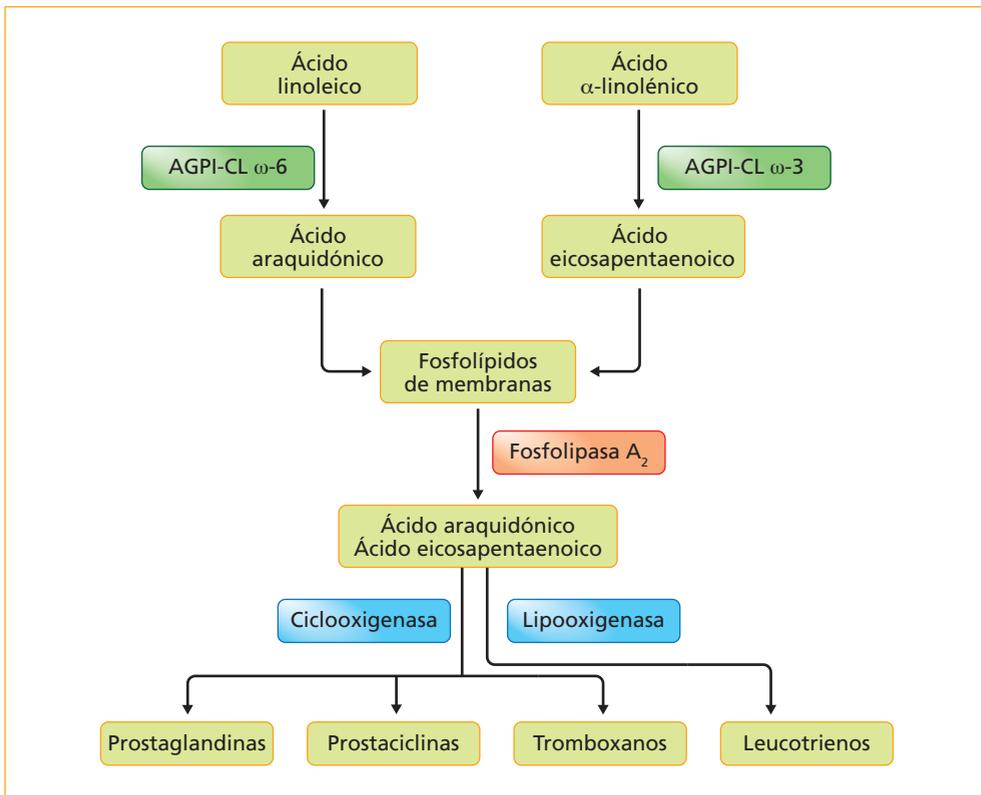


Figura 3. Formación de eicosanoides a partir de ácidos grasos poliinsaturados. Tomada de Gil A. Tratado de Nutrición. Editorial Médica Panamericana, Madrid 2010.

céridos que forman las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). También es transformado en un lisofosfolípido (principalmente como sn-2 araquidoneil fosfatidilcolina) que se transporta ligado a la albúmina plasmática. Ambos sistemas de transporte, que al parecer se complementan, permiten que el ácido graso se distribuya prácticamente a todos los tejidos. El AA transportado en la forma de lisofosfolípidos sería especialmente dirigido al cerebro, ya que esta es la forma de mayor biodisponibilidad para el transporte de AGPI CL a través de la barrera hematoencefálica. También existe cierta especificidad para dirigir el AA al órgano visual y a los testículos, aunque no está claro si el transporte ocurre a través de un lisofosfolípido o a través de lipoproteínas. La placenta es particularmente permeable a los AG, transportados por lisofosfolípidos unidos a albúmina.

El LNA que aporta la dieta es también oxidado en una alta proporción (sobre el 85%) y el resto se transforma por desaturación y elongación en DHA, su principal producto metabólico final. El LNA se transforma en DHA especialmente en el hígado y desde este órgano sería transportado de la misma forma que el AA, como un lisofosfolípido a través de la albúmina plasmática y casi exclusivamente al cerebro, al órgano visual, a los testículos y a la placenta. Las VLDL de origen hepático no transportan DHA, lo que marca una diferencia con el transporte del AA. Se ha propuesto que el DHA se acumularía en el tejido adiposo, su principal reservorio junto con el hígado, mediante un mecanismo de transporte que involucra también a los lisofosfolípidos. La acumulación de DHA en el tejido adiposo sólo

ocurre durante el embarazo, donde este tejido actúa como un reservorio temporal del ácido graso. Un producto intermedio de la transformación del LNA en DHA es el EPA, el cual tiene también importantes funciones fisiológicas que serán discutidas más adelante. Sin embargo, las funciones del EPA serían sólo relevantes cuando este ácido graso se consume como tal (a partir de fuentes marinas o de suplementos, por ejemplo), ya que su principal destino cuando se forma a partir del LNA en los microsomas es su transformación en DHA. Recientemente se ha propuesto que la mitocondria tendría, además del peroxisoma, la capacidad para formar DHA a partir del 24:6, omega-3. Esta retroconversión sería exclusiva para los derivados omega-3 y no para los omega-6 y ocurriría principalmente en el cerebro, particularmente en los astrocitos de la glía. Estas células tienen como función proveer de DHA a las neuronas para quienes el ácido graso es fundamental para mantener la fluidez de la membrana plasmática del soma, del cono axonal y de las vesículas sinápticas.

El AA puede ser liberado intracelularmente desde los fosfolípidos por la acción de la enzima fosfolipasa A<sub>2</sub>, la cual es activada por un tipo de proteína G en respuesta a señales endocrinas. La activación de la fosfolipasa permite que el AA liberado dé origen a una serie de productos metabólicos de gran actividad biológica identificados genéricamente como eicosanoides (por poseer 20 átomos de carbono).

La acción de la enzima ciclooxigenasa sobre el AA forma primero endoperóxidos, los cuales por oxidación posterior, dan origen a los productos metabólicos conocidos genéricamente como prosta-

glandinas, siendo los más importantes las prostaglandinas (propiamente tales), los tromboxanos y las prostacilinas. La enzima ciclooxigenasa transforma en las plaquetas al AA en tromboxanos de la serie 2 (TXA<sub>2</sub>) y en las células endoteliales el AA es convertido en prostaglandinas de la serie 2 (PG<sub>2</sub>) y en prostacilinas de la serie 2 (PCI<sub>2</sub>). Por otro lado, en los leucocitos el AA es transformado por la enzima lipo-oxigenasa en los leucotrienos de la serie 4 (LT<sub>4</sub>). Los TXA<sub>2</sub> ejercen un poderoso efecto estimulante de la agregación plaquetaria y son vasoconstrictores. Por el contrario, la PCI<sub>2</sub> liberada por las células endoteliales tiene un efecto inhibitorio de la agregación plaquetaria y es vasodilatadora. De esta forma, entre otros factores, la homeostasis vascular depende del adecuado equilibrio en la formación de TXA<sub>2</sub> y PCI<sub>2</sub>. Los LT<sub>4</sub> liberados por los leucocitos ejercen efectos proinflamatorios, quimiotáxicos y estimulan la adhesión celular. La PG<sub>2</sub> regula procesos inflamatorios y la liberación de citoquinas. De esta forma, los ácidos grasos omega-6, a través del AA, pueden ejercer importantes efectos reguladores en la homeostasis celular al ser transformados en prostaglandinas, prostacilinas y tromboxanos de la serie 2 y en leucotrienos de la serie 4.

Los ácidos grasos omega-3 también participan de la cascada de los eicosanoides a partir del EPA. Este ácido graso, principalmente de origen dietético, puede ser almacenado en el hígado a partir de los quilomicrones remanentes que capta este tejido y que transportan los lípidos de la dieta. El EPA ocupa generalmente la posición sn-2 de los fosfolípidos y triglicéridos de origen marino que forman parte de nuestra dieta, por lo cual no es liberado

por lipasa pancreática en el intestino (con especificidad sn-1 y sn-3), absorbiéndose como un lisofosfolípido si proviene de fosfolípidos, o como un monoglicérido si proviene de triglicéridos de la dieta. Tampoco es liberado desde los quilomicrones por la lipoproteína lipasa (LPL) vascular, retornando así al hígado. Este EPA es "exportado" por el hígado en la misma forma que el AA, con el cual potencialmente puede competir en la formación de los fosfolípidos de las membranas celulares. Al ser liberado por la acción de la fosfolipasa A<sub>2</sub>, el EPA participa de la cascada de los eicosanoides, dando origen, por la acción de la enzima ciclooxigenasa, a los tromboxanos de la serie 3 (TX<sub>3</sub>), a las prostaglandinas de la serie 3 (PG<sub>3</sub>) y a las prostacilinas de la serie 3 (PCI<sub>3</sub>). La enzima lipooxigenasa, a su vez, transforma al EPA en los leucotrienos de la serie 5 (LT<sub>5</sub>). Los productos de la acción de la ciclooxigenasa y de la lipooxigenasa sobre el EPA tienen generalmente muy poca actividad biológica o presentan efectos antagónicos a los productos de las mismas enzimas sobre el AA. Es así como el TXA<sub>3</sub> plaquetario es biológicamente inactivo, en tanto que la PCI<sub>3</sub> formada en las células endoteliales tiene efectos inhibitorios de la agregación plaquetaria y es vasodilatadora. La PG<sub>3</sub> presenta escasa actividad biológica, y el LT<sub>5</sub> formado en los leucocitos tiene efectos antiinflamatorios, e inhibe la quimiotaxis y la adhesión celular. De esta forma se produce una competencia entre los productos del metabolismo de los ácidos grasos omega-6 (AA) y de los ácidos grasos omega-3 (EPA), y cuyas consecuencias en la salud cardiovascular se discutirán en la próxima sección.

Más recientemente se ha descubierto que el DHA también forma derivados metabó-

licos oxidados de 22 carbonos, identificados como docosanoídeos o "resolvinas". Es poco lo que se sabe aún de estos derivados metabólicos; algunos, como la neuroprotectina, inhiben la apoptosis de las neuronas y la mayoría de ellos son potentes compuestos antiinflamatorios implicados en la resorción de las heridas. La figura 3 muestra las transformaciones metabólicas de los AGE omega-6 y omega-3 que conducen a la formación de los eicosanoídeos y la figura 4 sus efectos antagónicos en la homeostasis vascular.

Las citoquinas, las interleuquinas (IL) y los factores de necrosis tumoral (TNF) son una familia de proteínas producidas y liberadas por las células implicadas en los procesos inflamatorios y en la regulación del sistema inmunitario. El mecanismo mediante el cual los ácidos grasos n-3 afectan a la síntesis de las citoquinas no

está claro, pero algunos estudios han demostrado un efecto sobre los niveles de RNAm, lo que sugiere un nivel de acción transcripcional.

En los últimos años se ha comprobado que los ácidos grasos libres o esterificados con coenzima A pueden actuar como mediadores intracelulares capaces de regular la expresión génica de distintas moléculas. Es importante destacar esta función de los ácidos grasos sobre la expresión de genes que codifican enzimas que intervienen en el metabolismo de lípidos, hidratos de carbono y proteínas, así como en la regulación del crecimiento celular (genes de respuesta temprana inmediata).

La modulación de la expresión genética depende de la estructura y el metabolismo de los ácidos grasos y lo hacen a tra-

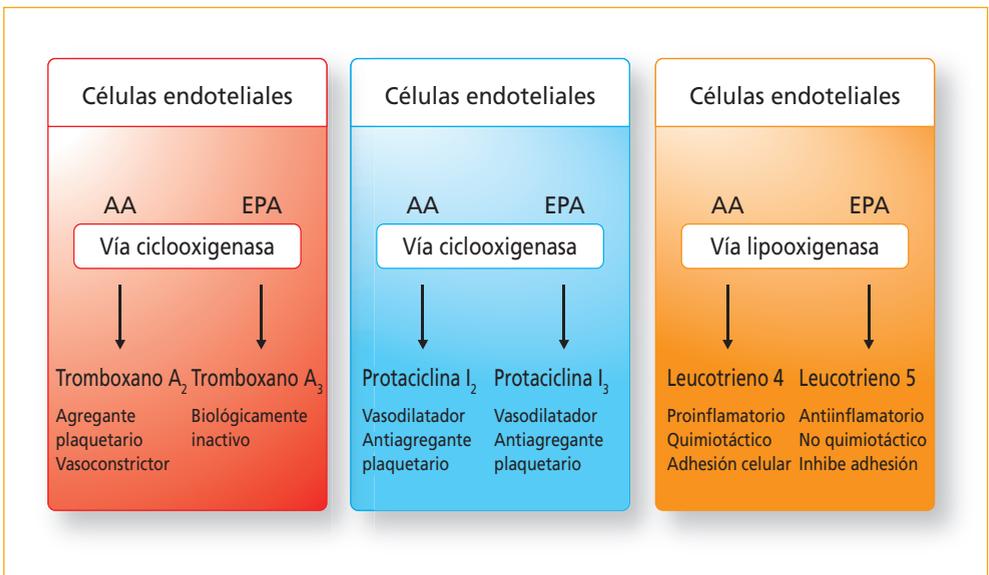


Figura 4. Efectos antagónicos de los eicosanoídeos derivados de los ácidos grasos poliinsaturados de las series n-6 y n-3 en la homeostasis vascular. Tomada de Gil A. Tratado de Nutrición. Editorial Médica Panamericana, Madrid 2010.

vés de distintos mecanismos de acción. Al parecer, la regulación negativa es inducida por los ácidos grasos de más de 18 carbonos y con, al menos, dos dobles enlaces, mientras que la regulación positiva es independiente de la longitud de la cadena y del grado de insaturación. Parece ser que los ácidos grasos pueden interactuar directamente con los factores de transcripción para controlar su actividad y alterar la transcripción de los genes implicados en la síntesis o metabolismo de eicosanoides y otros factores, o de forma indirecta modificando su actividad o concentración en el núcleo. Así, el conocimiento de estos mecanismos moleculares permitirá establecer nuevas estrategias terapéuticas para controlar el metabolismo lipídico, los niveles sanguíneos de TG y colesterol, y otros factores de riesgo importantes para algunas enfermedades inflamatorias, cardiovasculares, varios tipos de cáncer e incluso enfermedades neuronales degenerativas.

### **Fuentes dietéticas y disponibilidad de AGE y de AGPI**

La disponibilidad de AGE no ha sido la misma y tampoco ha sido constante durante la evolución del hombre moderno. Cuando el hombre era un cazador-recolector (más bien un carroñero) —el *Homo ergaster* de hace 40.000 años—, su alimentación era particularmente abundante en carnes magras, peces, vegetales verdes, frutas, raíces y miel, todos alimentos que en su conjunto le aportaban una adecuada cantidad de AGE omega-6 y omega-3. La carne de animales terrestres que cazaba o que

carroñeaba le aportaba cantidades suficientes de AA. La carne de peces y otros productos del mar le aportaban EPA y DHA, y los vegetales verdes LA y LNA. De esta forma, el aporte de AGE era muy equilibrado y prácticamente cercano a una relación 1:1 en peso de AGE omega-6 y omega-3. Más aún, se estima que el consumo total de grasa en la dieta de este antepasado no superaba en promedio el 20% de su ingesta calórica. Los cereales se incorporaron a la alimentación del hombre hace 10.000 años, es decir, cuando comenzó la evolución de la agricultura. A partir de esta etapa, los humanos aprendieron a cultivar sus propios alimentos y comenzó la domesticación de los animales, con lo cual su alimentación comenzó a provenir de los productos de su propia cosecha y de los animales de crianza (carne, leche, huevos). El advenimiento de la agricultura, si bien modificó el perfil nutricional del humano, ya que incorporó a los cereales en la alimentación, particularmente el trigo, el maíz y el arroz, no produjo cambios sustanciales en la disponibilidad y en la cantidad de AGE y de grasa total de su ingesta. Durante este periodo, el aporte de AGE de la dieta era también cercano a una relación 1:1 entre ácidos grasos omega-6 y omega-3.

Fue la Revolución Industrial, iniciada en la segunda mitad del siglo XIX, la que modificó sustancialmente la disponibilidad de los alimentos y la ingesta de AGE. Durante esta etapa, el hombre desarrolló procesos para la obtención industrial de los alimentos y para su conservación por periodos largos. En el caso particular de las materias grasas, desarrolló procedimientos (prensado, extracción por solventes, cocción, destilación, interesterificación, etc.)

para su obtención en forma masiva a partir de tejidos animales y de semillas vegetales. A partir de los tejidos animales y a través del procesamiento de grasa de depósito y/o de vísceras, se obtienen grasas y aceites con una composición alta de ácidos grasos saturados (AE principalmente) y monoinsaturados (AO), pero muy pequeñas cantidades de AGE. Los aceites de origen vegetal aportan mayoritariamente AO y LA, y proporcionalmente pequeñas cantidades de LNA. Algunos aceites aportan ácido palmítico (16:0) y ácidos grasos saturados de menor tamaño de cadena (12:0 y 14:0). Mas aún, el proceso de hidrogenación introducido industrialmente a comienzos del siglo xx y desarrollado para lograr un mejor manejo y estabilidad de los aceites de origen vegetal y animal (aceites marinos, por ejemplo), significó un aumento considerable de la

disponibilidad de grasas para el procesamiento industrial de los alimentos, pero una disminución importante del aporte de AGE, ya que estos ácidos grasos, por su mayor insaturación, son los más afectados por la hidrogenación. La hidrogenación produce, además, isómeros *trans*, por lo cual el consumo de productos hidrogenados, muy comunes en nuestra alimentación, generó un aumento del consumo de ácidos grasos con isomería *trans*, cuyos efectos en la salud son muy negativos. Los isómeros *trans* son aterogénicos y modifican la formación de los AGPICL derivados del LA y del LNA ya que, entre otros efectos, inhiben la actividad de la enzima  $\Delta$ -6 desaturasa, con lo cual reducen la formación de AGPICL omega-6 y omega-3.

De esta forma, a partir de la Revolución Industrial comenzó, en forma creciente, a

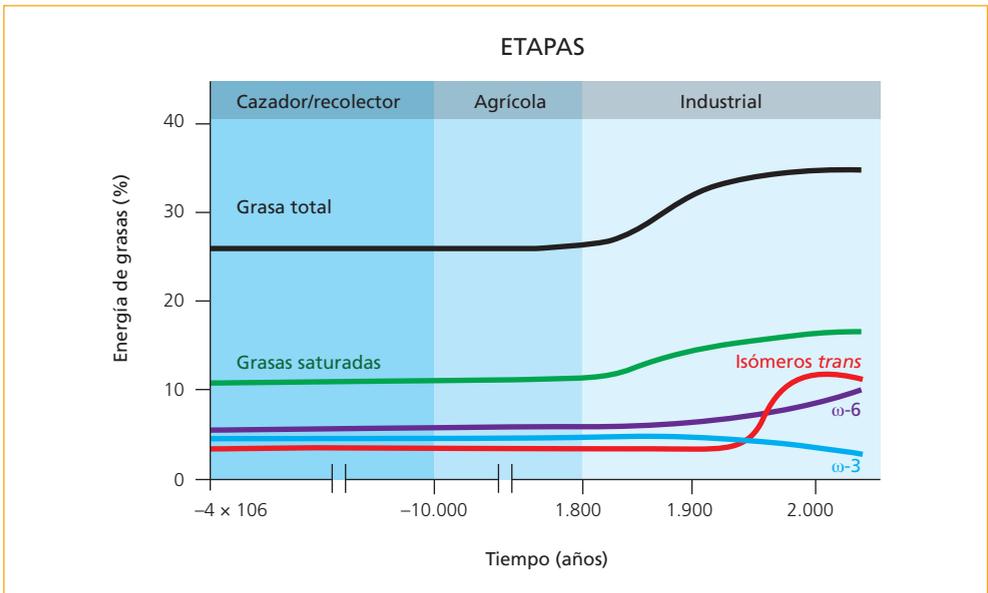


Figura 5. Esquema hipotético sobre la evolución del consumo de grasas y de ácidos grasos esenciales durante el desarrollo del hombre moderno. Tomada de Gil A. Tratado de Nutrición. Editorial Médica Panamericana, Madrid 2010.

aumentar el consumo de grasas, hasta superar en algunos países el 40% de la ingesta calórica. Además, la masiva disponibilidad de aceites vegetales ricos en LA y de productos hidrogenados (sin aporte de AGE) produjo una notable desproporción en la relación de consumo de AGE omega-6 y omega-3, que en algunos países puede ser tan dispar como 16:1 ó 20:1 entre AGE omega-6 y omega-3. También, el mayor consumo de grasas hidrogenadas ha producido un importante aumento de la ingesta de isómeros *trans* de origen tecnológico. Además, el bajo consumo de productos del mar en algunos países hace más crítico el desequilibrio omega-6:omega-3, ya que además del bajo consumo de LNA, ya comentado, también consumen muy poco EPA y DHA. Esta desproporción afecta mucho más al mundo occidental que al oriental, ya que en estas poblaciones las tradiciones culinarias utilizan mucho los productos del mar (vegetales, peces y mariscos), que aportan cantidades significativas de EPA y DHA. La figura 5 muestra un esquema hipotético sobre la evolución del consumo de grasas y de AGE durante el desarrollo del hombre moderno.

### **Efectos de los lípidos de la dieta sobre los procesos inflamatorios y el sistema inmunológico**

La inflamación es un proceso muy complejo cuyo objetivo es eliminar el agente causante y reconstruir los tejidos adyacentes dañados. Por lo tanto, la respuesta inflamatoria es fundamentalmente una respuesta de carácter protector. Sin embargo, el problema aparece cuando estos procesos se cronifican, convirtiéndose

se en perjudiciales, y constituyendo el mecanismo patogénico de reacciones de hipersensibilidad secundarias al efecto de fármacos, sustancias tóxicas y picaduras de insectos, y también de algunas de las enfermedades crónicas más frecuentes en la actualidad, como la artritis reumatoide, la aterosclerosis, la fibrosis pulmonar y la cirrosis hepática, entre otras. El objetivo de los fármacos antiinflamatorios es el de controlar los efectos adversos de la inflamación, potenciando al mismo tiempo sus efectos saludables.

En las últimas décadas se ha observado que la modificación del perfil lipídico de la dieta puede modular de forma beneficiosa los procesos inflamatorios y así disminuir la necesidad del uso de unos fármacos antiinflamatorios que provocan grandes efectos adversos. Se ha observado que una elevada ingesta de aceite de pescado y de aceite de oliva favorece una respuesta adecuada ante un determinado patógeno y aminora los efectos perjudiciales ocasionados por la cronificación de estos procesos.

Los macrófagos que acuden al tejido fagocitan al agente lesivo y presentan antígenos propios de éste en su superficie, activando así la respuesta inmunológica de los linfocitos, que producen anticuerpos específicos frente a ese patógeno. Además, durante estos procesos las células implicadas liberan estímulos quimiotácticos y enzimas para la reparación tisular que influyen en el proceso inflamatorio y van a ocasionar los síntomas característicos de esta respuesta. Dentro de los mediadores químicos de la inflamación destacan los eicosanoides, cuya formación a partir de AA y de EPA ya se ha comentado anteriormente.

Las dietas ricas en AGPI n-3 disminuyen los mediadores de inflamación en numerosas circunstancias experimentales y clínicas. Se ha descrito una relación inversa y exponencial entre el contenido de EPA en las membranas de las células mononucleares y su capacidad para la formación de algunas citoquinas proinflamatorias: IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ ; la síntesis de estas citoquinas alcanza un mínimo cuando la cantidad de EPA en las membranas supone un 1% del total de los ácidos grasos. Se desconocen los mecanismos moleculares responsables de estas acciones, pero parece ser que la inhibición de la síntesis de TNF- $\alpha$  inducida por el EPA se realiza a través de la modulación del factor nuclear NF- $\kappa$ B). Recientemente se ha comprobado que la intervención nutricional con aceite de pescado modula la respuesta inflamatoria alveolar mediante la disminución de PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$  e IL-8 en comparación con los efectos que produce la grasa animal y el aceite de girasol.

Sin embargo, los resultados acerca del efecto de los ácidos grasos de la serie 3 sobre el sistema inmunitario han sido contradictorios, debido a la dificultad a la hora de diseñar estudios adecuados. El efecto puede variar dependiendo de las dosis utilizadas, de la duración de la suplementación, además del tipo de ácido graso que se utilice. La suplementación con 4,9 g/día de DHA durante 4 semanas, previene la activación de algunos parámetros de linfocitos T en humanos sanos, mientras que este efecto no se observa cuando los individuos fueron suplementados con EPA. Por otro lado, un estudio reciente ha demostrado que el DHA es más efectivo en controlar el efecto proinflamatorio inducido en macrófagos activados con

lipopolisacárido que el EPA, ya que es capaz de disminuir el TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 antes y con menores dosis que el EPA, lo cual puede estar mediado por una mayor activación del factor nuclear NF- $\kappa$ B por parte del DHA.

Al igual que ocurre con las dietas ricas en n-3, y al contrario de lo que ocurre cuando las dietas son ricas en LA, la producción de PGE<sub>2</sub> y de LTB<sub>4</sub> por macrófagos y leucocitos polimorfonucleares en modelos de experimentación animal y en sujetos humanos, disminuye cuando son alimentados con dietas ricas en ácido oleico. Los principales estudios que han evaluado el efecto de los ácidos grasos sobre la *enfermedad inflamatoria intestinal* (EII) concluyen que tanto los AGMI, particularmente el ácido oleico, como los AGPI n-3 de cadena larga tienen propiedades antiinflamatorias debido a la modulación de la síntesis de mediadores químicos de la inflamación, especialmente eicosanoides y citoquinas proinflamatorias, y que su administración por vía oral resulta útil para el control clínico de toda una serie de enfermedades inflamatorias de naturaleza autoinmune, la artritis reumatoide y la EII.

Los primeros estudios epidemiológicos que evidenciaron la importancia de la ingesta dietética en los ácidos grasos n-3 observaron una menor incidencia de EII en los esquimales. Posteriormente, diversos estudios han apoyado el uso de estos ácidos grasos como coadyuvantes terapéuticos en el tratamiento de varias enfermedades inflamatorias, incluida la EII. El efecto parece estar mediado por una menor producción de LTB<sub>4</sub>, que se encuentra elevado en la mucosa intestinal inflamada, y por la inhibición de la

síntesis de algunas citoquinas proinflamatorias.

Los enfermos con EI, y concretamente los pacientes con *colitis ulcerosa*, se caracterizan por perfiles plasmáticos anormales de AGPI n-3, lo que indica que durante estas enfermedades se produce una alteración del metabolismo de estos AGPI. Nuestro grupo de trabajo ha demostrado que tanto la administración de aceite de oliva virgen como de aceite de oliva virgen conjuntamente con un suplemento de pescado, reduce las alteraciones histológicas macro y microscópicas en un modelo experimental de colitis ulcerosa inducido por inyección intrarrectal de trinitrobenzensulfónico.

Por otro lado, se ha demostrado que el LA induce la producción de IL-8 en las células del músculo liso intestinales de pacientes con *enfermedad de Crohn*, mientras que la suplementación con aceite de pescado modifica la composición de las células periféricas de la sangre y provoca una disminución de su síntesis de PGE<sub>2</sub> e IFN- $\gamma$ . Además, los infartos gastrointestinales multifocales, que constituyen uno de los primeros pasos en el desarrollo de la enfermedad de Crohn, sugieren que las plaquetas y el TXA<sub>2</sub> pueden desempeñar un papel fundamental en esta enfermedad. Por todo esto, el tratamiento con aceites de pescado podría ser recomendable para disminuir la respuesta plaquetaria en estos pacientes.

Otra enfermedad ampliamente extendida es la *artritis reumatoide*. Existen evidencias de la menor prevalencia de esta enfermedad en los países mediterráneos, aunque se desconocen las razones de este hecho. Se ha demostrado que la inclusión

en la dieta de cantidades elevadas de ácidos grasos n-3 procedentes del aceite de pescado puede disminuir algunos parámetros indicativos de esta enfermedad, y permitiría reducir el uso de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos.

La ingesta de una dieta rica en aceite de pescado en pacientes con artritis reumatoide, disminuye la producción de IL-1 por los monocitos en un 38%. Por otra parte, la producción de IL-2 y de su receptor en los linfocitos disminuye cuando son alimentados con dietas enriquecidas en aceite de oliva, tanto en modelos experimentales como en sujetos humanos sanos. Asimismo, la producción de IL-6 por fibroblastos humanos cultivados es menor en presencia de ácido oleico, mientras que el consumo de aceite de oliva virgen durante un periodo de 2 meses, da lugar a un aumento en la formación de la molécula de adhesión MCA-1 por los leucocitos, lo que sugiere unas implicaciones relevantes que ofrece el consumo de ácido oleico en la prevención de las enfermedades inflamatorias. Finalmente, cabe destacar que el efecto beneficioso del aceite de pescado sobre esta enfermedad se incrementa al combinarlo con aceite de oliva, lo que constituye una nueva terapia para su tratamiento.

## Efectos de los lípidos de la dieta sobre las enfermedades cardiovasculares

La aterosclerosis representa un conjunto de alteraciones del endotelio vascular común a varias enfermedades del sistema cardiovascular (ECV) que cursa con acumulación de lípidos en la pared arterial, crecimiento de la íntima y aumento de la

producción de proteínas de matriz extracelular. Actualmente se considera a la aterosclerosis como una enfermedad de base inflamatoria, ya que los procesos inflamatorios participan en cada una de las etapas de desarrollo de la enfermedad, desde la disfunción vascular hasta las complicaciones trombóticas finales.

El tipo de grasa de la dieta puede influir, directa o indirectamente, sobre algunos de los mediadores de la respuesta inflamatoria que participan en el desarrollo de la aterosclerosis, sobre los niveles de lípidos circulantes, así como sobre la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas, lo que también influye en la activación de moléculas de adhesión y otros factores inflamatorios.

En cuanto a los efectos de la grasa de la dieta sobre los lípidos plasmáticos, la sustitución de grasa saturada por otras mono o poliinsaturadas en la dieta origina descensos significativos de los niveles de colesterol plasmático y LDL colesterol (LDL-c) (lipoproteínas de baja densidad), hecho ampliamente aceptado y que concuerda con los resultados obtenidos por nuestro grupo de investigación en conejos con aterosclerosis experimental. La influencia de los AGMI de la dieta, mayoritariamente a través del aceite de oliva, sobre los lípidos plasmáticos tiene un efecto favorable, principalmente debido a un incremento de HDL colesterol (HDL-c) (lipoproteínas de alta densidad) y a una caída en los niveles de colesterol total y LDL-c. En cambio, las dietas ricas en AGPI n-6 disminuyen las concentraciones de colesterol total, HDL-c y LDL-c. Por otro lado, la acción principal de los AGPI n-3 en humanos es la reducción de la concentración de TG en plasma. Por último, los

ácidos grasos *trans* producen efectos diferentes a sus isómeros *cis*. A diferencia del ácido oleico, que eleva los niveles de HDL, su isómero *trans* 18:1 n-9 (elaídico) tiende a elevar los niveles séricos de LDL y a reducir los de HDL, por lo que el efecto sobre el cociente entre colesterol total y HDL parece ser más desfavorable cuando se ingieren ácidos grasos *trans* que con cantidades equivalentes de oleico. Por lo tanto, el consumo elevado de estos ácidos grasos no es conveniente y se desconoce si son más o menos perjudiciales que los AGS.

Diversos estudios aleatorizados controlados en humanos han demostrado los beneficios de los AGPICL (EPA + DHA) sobre la frecuencia cardiaca, la presión arterial y las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y probablemente sobre la relajación y la eficiencia cardiaca, las respuestas inflamatorias, la función endotelial, el tono autonómico y la proteinuria. Diversos experimentos en animales, incluidos primates, también han demostrado los efectos antiarrítmicos de los ácidos grasos omega-3. Asimismo, varios estudios prospectivos de cohortes de gran tamaño han generado evidencia directa de la influencia de estos ácidos grasos sobre variables directamente relacionadas con el riesgo de ECV. Los metaanálisis disponibles indican de forma consistente que el consumo de AGPICL n-3 se asocia a una menor incidencia de enfermedad coronaria y una reducción significativa de los eventos cardiacos, así como de la mortalidad.

Por lo que se refiere al consumo de LNA, aunque también puede reducir el riesgo de ECV, la evidencia no es tan fuerte como para los AGPICL n-3. El consumo

de LNA afecta favorablemente a algunos biomarcadores implicados en la función plaquetaria, la inflamación, la función endotelial y la presión arterial. Un meta-análisis de 14 estudios ha mostrado un beneficio sobre la glucosa plasmática y el fibrinógeno.

En relación con los AGPI n-6, se han demostrado efectos beneficiosos claros sobre los lípidos plasmáticos, incluida la disminución de LDL-colesterol, triglicéridos y la proporción de colesterol total a HDL-colesterol. En un análisis de 11 estudios de cohortes, la mayor ingesta de AGPI n-6 se asoció con una menor incidencia de enfermedad coronaria. Asimismo, en un metaanálisis de los estudios de intervención aleatorizados controlados disponibles hasta 2009 se ha observado una reducción similar en los eventos cardíacos cuando la grasa saturada se sustituye por AGPI n-6.

El inicio de la formación de la estría grasa consiste en la captación y acumulación de las lipoproteínas en monocitos y macrófagos que terminarán formando las células espumosas. La velocidad de captación depende de la composición lipídica de las lipoproteínas. Los quilomicrones enriquecidos en AGS y AGMI son captados más rápidamente que los enriquecidos en AGPI n-6 y n-3, sin embargo, esta mayor velocidad de captación conlleva una mayor acumulación lipídica en el interior de los macrófagos, únicamente en el caso de las partículas enriquecidas con aceite saturado.

La oxidación de la LDL provoca una alteración de la misma que permite el reconocimiento por los receptores "scavenger" de los macrófagos, llevando a la forma-

ción de las células espumosas. Es conocido que la resistencia a la oxidación lipídica de las lipoproteínas puede ser modificada por el perfil de ácidos grasos en la dieta y por su contenido en antioxidantes. Se ha demostrado que el consumo de una dieta rica en aceite de oliva virgen o refinado en conejos con aterosclerosis experimental protege a las partículas de LDL frente a la oxidación.

Por otro lado, es importante destacar el papel que puede jugar la presencia de compuestos minoritarios con carácter antioxidante en la fracción insaponificable de los aceites vegetales. Nuestro grupo de investigación ha demostrado que el aceite de oliva virgen protege mejor a la LDL frente a la oxidación en comparación con el aceite de girasol, a pesar del alto contenido en vitamina E de este último, en pacientes con patología vascular periférica, atribuyendo este efecto a la presencia de otros compuestos de carácter antioxidante en el aceite de oliva virgen extra; resultados que también han sido obtenidos tras la suplementación con hidroxitirosol, uno de los compuestos fenólicos más importantes del aceite de oliva y quercetina, un flavonoide presente en los vegetales. Todos estos resultados abren una nueva línea en la investigación de la aterosclerosis, destacando el papel protector que puede jugar la presencia de sustancias antioxidantes naturales, principalmente polifenoles y tocoferoles, presentes en la fracción insaponificable del aceite de oliva virgen extra, sobre el desarrollo de las ECV.

Los datos encontrados en la literatura científica sobre la influencia de los lípidos de la dieta en la producción de algunas citoquinas y factores de crecimiento

importantes en el desarrollo tanto de estrías grasas como de capa fibrosa, son diferentes, sin llegar a conclusiones contundentes. Los AGPI n-6 ejercen una acción proinflamatoria, especialmente el AA; el LA se puede considerar como un ácido graso aterogénico, ya que activa la expresión génica de las citoquinas mediadoras de la respuesta inmune en la pared vascular al incrementar el estrés oxidativo. Por otro lado, una dieta rica en colesterol y grasa saturada puede incrementar la expresión de VCAM-1 y E selectina de las membranas endoteliales de babuinos, mientras que, por el contrario, el DHA disminuye significativamente la expresión de estas moléculas junto con la molécula de adhesión intracelular (ICAM-1), tanto en cultivos de células endoteliales, como en humanos. Se ha demostrado que los linfocitos de ratones alimentados con dietas ricas en aceite de pescado, producen niveles inferiores de RNAm de IL-1 $\beta$  que aquellos alimentados con sebo de ternera. Este efecto parece estar asociado a una inhibición de la transcripción génica de esta citoquina, aunque se desconoce el mecanismo molecular. Por otro lado, la suplementación con aceite de pescado en conejos sometidos a un daño quirúrgico en la carótida previene la formación de la neoíntima al reducir la activación celular en la media y adventicia.

Para explicar el efecto de los AGPI n-3 sobre la expresión de las moléculas de adhesión se han propuesto tres posibles mecanismos. El primero es a través de la alteración de los eicosanoides derivados del AA, activadores de las citoquinas que estimulan la adhesión celular. El enriquecimiento de AGPI n-3 en las membranas celulares conlleva una inhibición de la sín-

tesis de promotores del proceso inflamatorio como son la PGE<sub>2</sub> y LTB<sub>4</sub>.

En segundo lugar y como ya se ha comentado en este artículo, los AGPI n-3 de la dieta y sus metabolitos pueden influir directamente sobre la expresión génica de muchos mediadores de la respuesta inmune, regulando la activación de factores de transcripción a través de la modificación de los procesos de fosforilación, proteólisis o unión covalente, y alterando así su expresión génica. La expresión génica de las citoquinas y de las moléculas de adhesión está regulada por el NF- $\kappa$ B, de manera que la fosforilación del mismo por la proteín-kinasa C y la consecuente disociación de su inhibidor, el I- $\kappa$ B, da lugar a la activación de citoquinas como la IL-2 e IL-6, y de moléculas de adhesión como la ICAM-1.

Por último, se ha demostrado que los AGPI n-3 pueden influir sobre la producción de óxido nítrico (NO), ya que disminuye la expresión del TNF- $\kappa$  a través del factor de transcripción NF- $\kappa$ B, inhibiendo, por tanto, la estimulación de VCAM-1 e ICAM-1. El NO presenta una acción redox por la que interacciona con los radicales libres y, dependiendo de su concentración puede provocar una inducción o una inhibición de la peroxidación lipídica. Numerosos estudios han destacado el importante papel que juega el NO en el desarrollo de la aterosclerosis, y parece estar ampliamente aceptado el posible efecto estimulador del aceite de pescado sobre la producción de NO; sin embargo, los resultados no están del todo claros, ya que se han observado efectos activadores, neutros o incluso inhibidores de la producción de NO.

## Efectos de los lípidos de la dieta sobre otras enfermedades crónicas

Se ha observado que los lípidos de la dieta pueden afectar algunos parámetros indicativos del estado de otras enfermedades que cursan con algunas alteraciones del sistema inmune y procesos inflamatorios, aunque su patología no sea exclusivamente inflamatoria. Estos efectos pueden ser ejercidos a través de una acción antiinflamatoria. De manera que enfermedades renales (nefropatía), pulmonares (asma y fibrosis quística), neuronales (Alzheimer, depresión, esquizofrenia, hiperreactividad, esclerosis múltiple, isquemia y en los desórdenes peroxisómicos), así como enfermedades de la piel, como la dermatitis atópica, pueden mejorar con terapias basadas en una suplementación con ácidos grasos de la serie n-3. Este tratamiento se basa en la premisa de que los AGPI n-3 pueden limitar la producción y la acción de citoquinas y eicosanoides inducida por un daño inmunológico crónico, además de la reducción de LT proinflamatorios.

En relación con el grado de evidencia para los ácidos grasos omega-3 en la prevención y el tratamiento de las demencias relacionadas con la edad, en una revisión sistemática reciente se ha indicado que existe un creciente cúmulo de pruebas a partir de estudios biológicos, observacionales y epidemiológicos que sugiere un efecto protector de los AGPI omega-3 contra la demencia. Sin embargo, hasta que se disponga de datos de ensayos aleatorios para el análisis, no existen pruebas de calidad para apoyar el uso dietético o suplementario de AGPI omega-3

para la prevención del deterioro cognitivo o la demencia. No obstante, hay una serie de estudios que apoyan el uso de los AGPI omega-3 en la prevención del deterioro cognitivo asociado al envejecimiento. Así, de una revisión de 10 estudios epidemiológicos sobre el riesgo de deterioro cognitivo, ocho mostraron resultados positivos. Además, la revisión de cuatro pequeños estudios de intervención con aceite de pescado y dos con otros nutrientes, como lipoato, UMP y vitaminas del complejo B, ofrecieron resultados también positivos. En cualquier caso, los ensayos clínicos realizados hasta 2010 sugieren que el DHA o el aceite de pescado disminuye la patogénesis de la demencia senil y posiblemente de la demencia vascular, aunque hay resultados controvertidos. El DHA es pleiotrópico y actúa en varias vías metabólicas y de señalización celular implicadas en la producción del péptido mieloide. Además, el DHA y el aceite de pescado pueden disminuir la progresión de los estados iniciales de la demencia relacionada con la edad, pero los efectos son específicos y dependen del genotipo específico de la apoE. En ese sentido, una investigación reciente derivada de un estudio de intervención aleatorizado a doble ciego, controlado por placebo, utilizando una dosis oral de 700 mg/día de AGPI n-3 (200 mg EPA + 500 mg DHA), frente a aceite de oliva en una cohorte de 867 sujetos del Reino Unido, indica que la función cognitiva no difiere entre los dos grupos en los dos años de estudio pero los que no tenían el alelo apo-E4 experimentaron un menor deterioro cognitivo en el grupo que recibió el suplemento de AGPI n-3.

Por otra parte, se están estudiando los efectos potencialmente beneficiosos de

los AGPI n-3 en el desarrollo y progresión del cáncer, especialmente de los cánceres en humanos que han sido relacionados con el estilo de vida, el ejercicio físico y con la dieta, tales como el cáncer de colon, mama, próstata y ovarios. Se ha sugerido que una ingesta relativamente elevada de AGPI n-3 podría inhibir, al menos en parte, los procesos apoptóticos en las células tumorales, inducir su diferenciación e inhibir la angiogénesis alrededor del tumor, impidiendo su crecimiento y modulando los mecanismos de interferencia en la actividad de enzimas y proteínas relacionadas con señales intracelulares y con la proliferación celular. Algunos de estos efectos podrían estar relacionados con la mejora en la función de los macrófagos y linfocitos T inducida por el aceite de pescado. Por otro lado, estudios preclínicos han indicado que, además, estos ácidos grasos pueden beneficiar a los pacientes que están siendo tratados con quimioterapia e incluso mejorar la sintomatología secundaria de algunos tipos de cáncer, como el de páncreas.

### **Recomendaciones dietéticas de ingesta de ácidos grasos en la salud y la enfermedad**

La Organización Mundial de la Salud, conjuntamente con la FAO, emitió un informe en el año 2003 sobre recomendaciones de dieta y nutrición para la prevención de las enfermedades crónicas; en dicho informe se evaluaron particularmente los efectos de la grasa y de diferentes tipos de ácidos grasos sobre las enfermedades cardiovasculares y la obesidad, utilizando cuatro niveles para determinar la evidencia disponible (convinciente, probable,

posible e insuficiente). En el año 2008, el Comité de Expertos conjunto de la OMS/FAO sobre grasa y ácidos grasos ha emitido un nuevo informe, en este caso específico para las recomendaciones de ingesta de grasa y de ácidos grasos y su influencia sobre la prevención de las enfermedades crónicas de mayor interés desde el punto de vista de la salud pública; en este nuevo informe se continúan utilizando los cuatro niveles de evidencia.

Las recomendaciones de consumo de grasa y de ácidos grasos se enmarcan en las metas de ingesta de grasa para la población general. Estas recomendaciones se han formulado con la idea de incluir los países donde la ingesta habitual de grasas es superior al 30% de la energía total, como también para aquellas poblaciones donde la ingesta habitual es muy baja (inferior al 15% de la energía total). Una ingesta de energía procedente de las grasas de, al menos, un 20% se considera compatible con un buen estado de salud. No obstante, los grupos de población con una marcada actividad física y con una alimentación rica en verduras, legumbres, frutas y cereales, pueden tener una ingesta total de grasas de hasta un 35% de la energía sin exponerse a un aumento de peso y a efectos perjudiciales en la salud derivados del mayor consumo de grasa. Por otro lado, en poblaciones donde la ingesta habitual de grasas se sitúa entre el 15 y el 20% de la energía, no es recomendable aumentar el consumo de grasa hasta alcanzar las recomendaciones, si el resto de la energía es aportada en forma equilibrada. En la actualidad se considera tan importante como la cantidad de grasa que se consume, la calidad de ésta. Entendiendo por tal el que contenga una

adecuada cantidad y proporción de AGE omega-6 y omega-3, una adecuada cantidad de ácidos grasos monoinsaturados, una baja cantidad de ácidos grasos saturados, e idealmente ausencia de ácidos grasos con isomería *trans*. Basándose en estas recomendaciones, se han elaborado las guías actuales para la ingesta de grasa para la población en general. Estas metas se resumen en la tabla 3, que muestra las recomendaciones de ingesta para los adultos de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, AGPI totales, AGE y AGPICL omega-3. Estas recomendaciones se establecen como rango aceptable de distribución de macronutrientes (AMDR), ingesta adecuada (AI) —cuando no se dispone del AMDR— y de requerimiento medio estimado (EAR). Asimismo, cuando es posible, se han establecido los límites superiores e inferiores de ingesta como porcentaje de la energía total, basado en una dieta de 2.000 kcal, y en algunos casos como los AGPICL omega-3 expresados como g/día.

Los AMDR para la grasa saturada es de 10% E y para AGPI totales de 6-11%. El AMDR de ácidos grasos monoinsaturados se obtiene por diferencia del total de ácidos grasos saturados, AGPI totales y ácidos grasos *trans*, por lo cual se deduce que para una ingesta de grasa equivalente al 30% de la energía, los ácidos grasos monoinsaturados deben constituir el mayor aporte (aproximadamente, 24% de la energía). El bajo consumo de ácidos grasos *trans* sugerido (< 1% E) para la ingesta adecuada de materias grasas constituye una indicación para evitar el consumo de alimentos que contienen grasa hidrogenada, como también la reutilización de los aceites utilizados en procesos de fritura.

El AMDR para los AGPI n-6 se sitúa en 2,5-9% E, el EAR en 2,5% E y la AI en 2-3%. Para el caso de los AGPI n-3, el AMDR se ha establecido en 0,5-2% E y el nivel mínimo de ingesta para el LNA en 0,5% E. En el caso concreto de los AGPICL omega-3, particularmente del EPA y del DHA, y debido a que su mejor fuente son los productos del mar, la recomendación para los adultos es el consumo regular de peces (dos o tres raciones a la semana), especialmente de especies grasas (atún, salmón, sardina, anchoa, etc.). Cada ración en promedio debería aportar 200-500 mg de EPA + DHA. Esto debería satisfacer el AMDR, que se ha establecido en un rango de 0,250 a 2 g, este último valor para la prevención secundaria de enfermedad cardiaca.

El periodo gestacional determina un requerimiento importante de DHA por parte del feto, especialmente durante el último tercio del embarazo. Se sugiere que la madre reciba como mínimo 300 mg/día de DHA. Los vegetarianos absolutos deben cuidar su ingesta de AGE omega-3 (LNA), ya que, como se comentó anteriormente, este ácido graso es sólo aportado en pequeñas cantidades por algunos vegetales. El aporte de LNA puede ser compensado con el consumo de pequeñas cantidades de aceite de soja, canola (raps) o linaza.

El Comité de Expertos conjunto de la OMS/FAO también ha dictado las recomendaciones de ingesta de ácidos grasos para la edad pediátrica, si bien éstas no se comentan aquí por considerar que están fuera del alcance de este capítulo.

En las nuevas recomendaciones de ingesta de grasa de la OMS/FAO es importante

**Tabla 3. Ingestas recomendadas de grasa total y de ácidos grasos para los adultos de la FAO/OMS (2008).**

Grasa/ácido graso	Ingesta recomendada	Cantidad	Nivel de evidencia		
			Convincente	Probable	Posible
Grasa Total	AMDR U-AMDR L-AMDR	20-35% E 35% E 15% E	Sin relación con los eventos cardíacos, infartos, cáncer total o subtipos		Riesgo de diabetes, componentes del SM, adiposidad y peso corporal
AGS	U-AMDR	10% E	C 12-C16 ↑LDL y Col/HDL respecto a AGMI o AGPI; ↑LDL y sin efecto en Col/HDL respecto CHO	↑Riesgo de diabetes	Riesgo de hipertensión, adiposidad y peso corporal
AGMI	AMDR	Por diferencia	↓LDL y Col/HDL al sustituir por AGS (12:0-16:0)	↓Riesgo de los componentes del SM	Riesgo de diabetes, adiposidad y peso corporal, eventos ECV, cáncer total o subtipos
AGPI totales	AMDR U-AMDR L-AMDR AI	6-11% E 11% E 6% E 2,5-3,5% E	Ver arriba para intercambio con AGS o AGPI Esenciales LA y LNA ↓Riesgo de eventos de ECV cuando los AGPI sustituyen a AGS	↓Riesgo de los componentes del SM y diabetes ↑Peroxidación lipídica con consumo elevado de AGPI y bajo de tocoferol Mínimo específico para prevenir la deficiencia no claro	Riesgo de adiposidad y cáncer total o subtipos
AGPI n-6	AMDR (LA) EAR AI	2,5-9% E 2% E (SD 0,5%) 2-3% E	Ver arriba para intercambio con AGS o AGPI LA esencial	↓Riesgo de los componentes del SM y diabetes	Riesgo de adiposidad y cáncer total o subtipos
AGPI n-3	AMDR (n-3) L-AMDR (ALA) AMDR (EPA + DHA)	0,5-2% E ≥ 0,5% E 0,250-2 g/día	↓Riesgo de eventos fatales de ECV LNA esencial	↓Riesgo de eventos de ECV e infarto Mínimo específico para prevenir la deficiencia no claro	Riesgo de peso corporal/adiposidad, diabetes y cáncer total o subtipos
AG trans	UL	< 1% E	↓HDL y ↑Col/HDL respecto a AGS (C12-C16:0), AGMI o AGPI ↑Riesgo de eventos de ECV	↑Riesgo de eventos de ECV fatales e infarto (EPA + DHA) ↑Riesgo de los componentes del SM y de diabetes	Riesgo de peso corporal/adiposidad, diabetes y cáncer total o subtipos

AG: ácidos grasos saturados; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; ALA: ácido α-linolénico; AI: ingesta adecuada; AMDR: rango de distribución aceptable de ingesta de macronutriente; L-AMDR: nivel mínimo tolerable de ingesta; U-AMDR: nivel máximo tolerable de ingesta; % E: porcentaje de la energía; ECV: enfermedad cardiovascular; EPA: ácido eicosapentaenoico; DHA: ácido docosahexaenoico; LA: ácido linoleico; SD: desviación estándar; SM: síndrome metabólico.

señalar que si bien se han tenido en cuenta los estudios de experimentación animal, así como los transversales, los estudios ecológicos y los estudios prospectivos de cohortes en humanos, especialmente en lo que se refiere a posibles hipótesis de los efectos de la grasa sobre las enfermedades crónicas, únicamente se han tenido en cuenta para establecer las recomendaciones los estudios aleatorizados y controlados, debido a que las variables confusoras están minimizadas. Cuando no se disponía de variables directamente relacionadas con el riesgo de la enfermedad, se han considerado variables secundarias de tipo fisiológico.

## Conclusiones

La calidad de la dieta, mucho más que la cantidad, desempeña un papel fundamental en la etiología de las enfermedades crónicas más prevalentes, en particular de las ECV. Cantidades elevadas de ácidos grasos saturados (> 10% E) y de ácidos grasos *trans* (> 1% E) en la dieta se asocian con una mayor incidencia de ECV y de otras enfermedades de base inflamatoria, mientras que el consumo de cantidades moderadas de AGPI (6-11% E) y de cantidades relativamente altas de AGPI n-3 (0,25-2 g/día) tienen una influencia muy positiva en la prevención de las ECV y de otras patologías de base inflamatoria.

Los ácidos grasos omega-3 se utilizan con ventaja en el tratamiento de numerosas enfermedades crónicas debido a su papel como precursores de mediadores químicos, con escasa actividad proinflamatoria, y a sus efectos en la disminución de la producción de varias citoquinas inflamatorias. Por otro lado, el ácido oleico resulta

también beneficioso en este tipo de enfermedades, principalmente en la aterosclerosis, no sólo por su efecto directo sobre parámetros inflamatorios, sino también por su efecto sobre los procesos oxidativos que contribuyen al desarrollo de esta enfermedad. Al contrario, los AGPI de la serie 6, aunque necesarios, pueden resultar perjudiciales en determinadas situaciones patológicas, especialmente las que tienen una base inflamatoria.

El Comité de Expertos conjunto de la OMS/FAO para el estudio de la grasa y de los ácidos grasos ha recomendado que la ingesta diaria de EPA y DHA debe ser de 0,250 a 2 g/día. Estas cifras sólo se alcanzan en sujetos que comen pescado y otros alimentos marinos de forma habitual. El consumo de 30-60 g/día de pescado azul permite cubrir los requerimientos. Sin embargo, muchos sectores de la población no comen suficiente pescado, por lo que cubrir la ingesta recomendada se hace a menudo muy difícil. Lo importante es buscar el equilibrio de los componentes grasos ingeridos sin renunciar a ningún tipo de alimento, para asegurar niveles adecuados de todos los nutrientes necesarios.

## Bibliografía recomendada

Aguilera CM, Mesa MD, Ramírez-Tortosa MC, Nestares MT, Ros E, Gil A. Sunflower oil does not protect against LDL oxidation as virgin olive oil does in patients with peripheral vascular disease. *Clin Nutr.* 2004; 23:673-81.

Aguilera CM, Ramírez Tortosa MC, Mesa MD, Ramírez-Tortosa CL, Gil A. Sunflower, virgin olive and fish oils differentially affect the progression of aortic lesions in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2002; 162:335-44.

- Aguilera CM, Ramírez-Tortosa MC, Mesa MD, Gil A. Protective effect of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the development of cardiovascular disease. *Nutr Hops*. 2001; 16:78-91.
- Akabas S, Deckelbaum R. N-3 Fatty acids: Recommendations for therapeutics and prevention. *Am J Clin Nutr*. 2006; 83(S):1.451-1.538.
- Alzogaibi MA, Walsh SW, Willey A, Yager DR, Fowler AA 3rd, Graham MF. Linoleic acid induces interleukin-8 production by Crohn's human intestinal smooth muscle cells via arachidonic acid metabolites. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004; 286:G528-7.
- Bazan NG. Cell survival matters: docosahe-xaenoic acid signaling, neuroprotection and photoreceptors. *Trends in Neurosci*. 2006; 29:263-71.
- Bazan NG. Neuroprotectin D1 (NPD1): a DHA-derived mediator that protects brain and retina against cell injury-induced oxidative stress. *Brain Pathol*. 2005; 15:159-66.
- Belluzzi A. Polyunsaturated fatty acids (n-3 AGPIs) and inflammatory bowel disease (IBD): pathogenesis and treatment. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2004; 8:225-9.
- Berbert AA, Kondo CR, Almendra CL, Matsuo T, Dichi I. Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition*. 2005; 21:131-6.
- Bhattacharya A, Sun D, Rahman M, Fernandes G. Different ratios of eicosapentaenoic and docosahexaenoic omega 3 fatty acids in commercial fish oils differentially alter pro-inflammatory cytokines in peritoneal macrophages from C57BL/6 female mice. *J Nutr Biochem*. 2007; 18:23-30.
- Bougnoux P. n-3 polyunsaturated fatty acids and cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 1999; 2:121-6.
- Burlingame B, Nishida C, Uauy R, Weisell R. Fats and fatty acids in human nutrition; joint FAO/WHO Expert Consultation. *Ann Nutr Metab*. 2009; 55:1-3.
- Burr ML, Ashfield-Watt PA, et al. Lack of benefit of dietary advice to men with angina: results of a controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2003; 157:193-200.
- Burr ML, Fehily AM, et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet*. 1989; 2:757-61.
- Calder PC, Dangour AD, Diekman C, Eilander A, Koletzko B, Meijer GW, et al. Essential fats for future health. Proceedings of the 9th Unilever Nutrition Symposium, 26-27 May 2010. *Eur J Clin Nutr*. 2010 Dec; 64(suppl. 4):S1-13.
- Calder PC, Yaqoob P, Thies F, Wallace FA, Miles EA. Fatty acids and lymphocyte functions. *Br J Nutr*. 2002; 87:S31-48.
- Calder PC. n-3 fatty acids, inflammation, and immunity--relevance to postsurgical and critically ill patients. *Lipids*. 2004; 39:1.147-61.
- Carrero JJ, Martín-Bautista E, Baro L, et al. Cardiovascular effects of omega 3-fatty acids and alternatives to increase their intake. *Nutr Hops*. 2005; 20:63-9.
- Carty E, Rampton DS, Schneider H, Rutgeerts P, Wright JP. Lack of efficacy of ridogrel, a thromboxane synthase inhibitor, in a placebo-controlled, double-blind, multi-centre clinical trial in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2001; 15:1.323-9.
- Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Cleland LG, James MJ. The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am J Clin Nutr*. 1996; 63:116-22.
- Chlopicki S, Lomnicka M, Gryglewski RJ. Obligatory role of lipid mediators in platelet-neutrophil adhesion. *Thromb Res*. 2003; 15:287-92.
- Cole G, Fraustchy SA. DHA may prevent age-related-dementia *J Nutr*. First published ahead of print April 2010: 140; 4 as doi: 10.3945/jn.109.113910
- Dangour AD, Allen E, Elbourne D, et al. Effect of n'3 long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation on cognitive function in older people: a randomized, double-blind, controlled trial. *AJCN*. First published ahead of print April 21, 2010 as doi: 10.3945/ajcn.2009.29121.

- Darios F, Davletov B. omega 3 and omega 6 fatty acids stimulate cell membrane expansion by acting on syntaxin 3. *Nature*. 2006; 440:813-7.
- Darlington LG, Stone TW. Antioxidants and fatty acids in the amelioration of rheumatoid arthritis and related disorders. *Br J Nutr*. 2001; 85:251-69.
- De Caterina R, Libby P. Control of endothelial-leukocyte adhesion molecules by n-3 fatty acids. *Lipids*. 1996; 31:557-63.
- De la Puerta Vázquez R, Martínez-Domínguez E, Sánchez Perona J, Ruiz-Gutiérrez V. Effects of different dietary oils on inflammatory mediator generation and fatty acid composition in rat neutrophils. *Metabolism*. 2004; 53:59-65.
- De Pascale C, Avella M, Perona JS, Ruiz-Gutierrez V, Wheeler-Jones CP, Botham KM. Fatty acid composition of chylomicron remnant-like particles influences their uptake and induction of lipid accumulation in macrophages. *FEBS J* 2006; en prensa.
- Deckelbaum R, Akabas S. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: navigating toward recommendations. *Am J Clin Nutr*. 2006; 84:1-2.
- Decsi T, Koletzko B. N-3 fatty acids and pregnancy outcomes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2005; 8:161-6.
- Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases. WHO Technical report N.º 916. 2003.
- Dunstan JA, Mori TA, Barden A, Beilin LJ, Taylor AL, Holt PG, Prescott SL. Fish oil supplementation in pregnancy modifies neonatal allergen-specific immune responses and clinical outcomes in infants at high risk of atopy: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 112:1:178-84.
- Esteve M, Navarro E, Klaassen J, Abad-Lacruz A, González-Huix F, Cabre E, Ramos E, Condom E, Fernández-Banares F, Pastor C, Humbert P, Martí-Rague J, Gassull MA. Plasma and mucosal fatty acid pattern in colectomized ulcerative colitis patients. *Dig Dis Sci*. 1998; 43:1:071-8.
- FAO. Fats and oils in human nutrition; Report of a joint FAO/WHO expert consultation. FAO Technical Papers 57, Rome, 1994.
- Fernández G, Chandrasekar B, Luan X, Troyer DA. Modulation of antioxidant enzymes and programmed cell death by n-3 fatty acids. *Lipids*. 1996; 31:91-6.
- Field CJ, Thomson CA, Van Aerde JE, Parrott A, Euler A, Lien E, Clandinin MT. Lower proportion of CD45RO cells and deficient interleukin 10 production by formula-fed infants, compared with human-fed, is corrected with supplementation of long-chain polyunsaturated fatty acids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000; 31:291-9.
- Gil A, Ramírez-Tortosa MC, Aguilera CM, Mesa D. Modelos experimentales de enfermedad cardiovascular. *Nutr Hosp*. 2007; 22:169-77.
- Gil A. Papel de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados en los procesos inflamatorios. En: Libro blanco de los omega-3. Los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud. Ed. Médica Panamericana. 2004; 65-80.
- Gil A. Tratado de Nutrición, Editorial Médica Panamericana, Madrid, 2010.
- GISSI-Prevenzione Investigators. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. *Lancet*. 1999; 354:447-55.
- González-Santiago M, Martín-Bautista E, Carrero JJ, et al. One-month administration of hydroxytyrosol, a phenolic antioxidant present in olive oil, to hyperlipemic rabbits improves blood lipid profile, antioxidant status and reduces atherosclerosis development. *Atherosclerosis*. 2006; 188:35-42.
- Hardman WE. (n-3) fatty acids and cancer therapy. *J Nutr*. 2004; 134:S3427-30.
- Harris WS, Mozaffarian D, Lefevre M, Toner CD, Colombo J, Cunnane SC et al. Towards establishing dietary reference intakes for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *J Nutr*. 2009; 139:804S-19S.
- Haubner LY, Stockard JE, Saste MD, Benford VJ, Phelps CP, Chen LT, Barness L, Wiener D, Carver JD. Maternal dietary docosahexaenoic

- acid content affects the rat pup auditory system. *Brain Research Bulletin*. 2002; 58:1-5.
- Hawkes JS, Bryan DL, Makrides M, Neumann MA, Gibson RA. A randomized trial of supplementation with docosahexaenoic acid-rich tuna oil and its effects on the human milk cytokines interleukin 1b, interleukin 6, and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Am J Clin Nutr*. 2002; 75:754-60.
- Hegsted DM, McGandy R.B. et al. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr*. 1965; 17:281-95.
- Holub B. Clinical nutrition: omega 3 fatty acids in cardiovascular care. *Can Med Assoc J (CMAJ)*. 2002; 166:608-15.
- Horrocks LA, Yeo YK. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacological Research*. 1999; 40:211-25.
- Howard BV, Van Horn L, et al. Low-fat dietary pattern and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *JAMA*. 2006; 295:655-66.
- Jakobsen MU, O'Reilly EJ, Heitmann BL, Pereira MA, Balter K, Fraser GE, et al. Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of 11 cohort studies. *Am J Clin Nutr*. 2009; 89:1.425-32.
- Jakobsen MU, O'Reilly EJ, et al. Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of 11 cohort studies. *Am J Clin Nutr*. 2009; 89:1.425-32.
- Jakschik BA, Morrison AR, Sprecher H. Products derived from 5,8,11-eicosatrienoic acid by the 5-lipoxygenase-leukotriene pathway. *J Biol Chem*. 1983; 10:12.797-800.
- Joint FAO/WHO Expert Consultation on fats and fatty acids in human nutrition. Interim summary of conclusions and dietary recommendations on total fat and fatty acids. November 10-14, 2008, WHO HQ, Geneva.
- Jump DB. Fatty acid regulation of gene transcription. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2004; 41:41-78.
- Kamada C, Da Silva EL, Ohnishi-Kameyama M, Moon JH, Terao J. Attenuation of lipid peroxidation and hyperlipidemia by quercetin glucoside in the aorta of high cholesterol-fed rabbit. *Free Radic Res*. 2005; 39:185-94.
- Kew S, Mesa MD, Tricon S, Buckley R, Minihane AM, Yaqoob P. Effects of oils rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on immune cell composition and function in healthy humans. *Am J Clin Nutr*. 2004; 79:674-81.
- Keys A, Anderson J, et al. Serum cholesterol response to changes in the diet. IV. Particular saturated fatty acids in the diet. *Metabolism*. 1965; 14:776-87.
- Keys A, Menotti A, et al. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol*. 1986; 124:903-15.
- Keys A. Coronary heart disease in seven countries. *Circulation*. 1965; 41:1-211.
- Khan BV, Parthasarathy S, Alexander RW, Medford RM. Modified LDL and its constituents augment cytokine-activated vascular cell adhesion molecule-1 gene expression in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest*. 1995; 95:1.262-70.
- Kremer JM, Lawrence DA, Jubiz W, DiGiacomo R, Rynes R, Bartholomew LE, Sherman M. Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis. Clinical and immunologic effects. *Arthritis Rheum*. 1990; 33(6):810-20.
- Kremer JM. N-3 fatty acid supplements in rheumatoid arthritis. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71:S349-51.
- Larqué E, Zamora S, Gil A. Dietary trans fatty acids in early life: a review. *Early Hum Dev*. 2001; 65:31-41.
- Lauritzen L, Hansen HS, Jorgensen MH, Michaelsen KF. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Progress Lipid Res*. 2001; 40:1-94.
- Lim WS, Gammack JK, Van Niekerk J, Dangour AD. Ácidos grasos omega 3 para la prevención de la demencia (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2008, número 2. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 2. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
- Lombardi VRM, Cagiao A, Fernández-Novoa L, Álvarez XA, Corzo MD, Zas R, Sanpedro C,

- Cacaelos R. Short term food supplementation effects of a fish derived extract on the immunological status of pregnant rats and their sucklings pups. *Nut Res.* 2001; 21:1.425-34.
- Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77:1.146-55.
- Mente A, De KL, Shannon HS, Anand SS. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. *Arch Intern Med.* 2009; 169:659-69.
- Miles EA, Banerjee T, Dooper MM, M'Rabet L, Graus YM, Calder PC. The influence of different combinations of gamma-linolenic acid, stearidonic acid and EPA on immune function in healthy young male subjects. *Br J Nutr.* 2004; 91:893-903.
- Moller S, Lauridsen C. Dietary fatty acid composition rather than vitamin E supplementation influence ex vivo cytokine and eicosanoid response of porcine alveolar macrophages. *Cytokine.* 2006; 35:6-12.
- Moses AW, Slater C, Preston T, Barber MD, Fearon KC. Reduced total energy expenditure and physical activity in cachectic patients with pancreatic cancer can be modulated by an energy and protein dense oral supplement enriched with n-3 fatty acids. *Br J Cancer.* 2004; 8:996-1.002.
- Mozaffarian D, Micha R, Wallace S. Effects on coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS Med* 7. 2010; e1000252.
- Mozaffarian D, Rimm EB. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. *JAMA.* 2006; 296:1.885-99.
- Mozaffarian D. Does alpha-linolenic acid intake reduce the risk of coronary heart disease? A review of the evidence. *Altern Ther Health Med.* 2005; 11:24-30.
- Neuringer M. Infant vision and retinal function in studies of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids: methods, results, and implications. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71:5256-67.
- Nieto N, Torres MI, Ríos A, Gil A. Dietary polyunsaturated fatty acids improve histological and biochemical alterations in rats with experimental ulcerative colitis. *J Nutr.* 2002; 132:11-9.
- Oh R. Practical applications of fish oil (omega 3 fatty acids) in primary care. *J Am Board Fam Pract.* 2005; 18:28-36.
- Okuyama H. Recommended LNA/LA ratio for the prevention of chronic, elderly diseases. *Abstracts 88th AOCS. Annual Meeting and Expo.* 1997; 75.
- Pattison DJ, Symmons DP, Young A. Does diet have a role in the aetiology of rheumatoid arthritis? *Proc Nutr Soc.* 2004; 63:137-43.
- Pearson JD. The control of production and release of haemostatic factors in the endothelial cell. *Baillieres Clin Haematol.* 1993; 3:629-51.
- Pegorier JP, Le May C, Girard J. Control of gene expression by fatty acids. *J Nutr.* 2004; 134:2.444S-9S.
- Peoples GE, McLennan PL, Howe PR, Groeller H. Fish oil reduces heart rate and oxygen consumption during exercise. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2008; 52:540-7.
- Pizato N, Bonatto S, Piconcelli M, De Souza LM, Sasaki GL, Naliwaiko K, Nunes EA, Curi R, Calder PC, Fernandes LC. Fish oil alters T-lymphocyte proliferation and macrophage responses in Walker 256 tumor-bearing rats. *Nutrition.* 2006; 22:425-32.
- Prescott SL, Calder PC. N-3 polyunsaturated fatty acids and allergic disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2004; 7:123-9.
- Ramírez-Tortosa MC, Aguilera CM, Quiles JL, Gil A. Influence of dietary lipids on lipoprotein composition and LDL Cu<sup>2+</sup>-induced oxidation in rabbits with experimental atherosclerosis. *BioFactors.* 1998; 8:79-85.
- Ramírez-Tortosa MC, López-Pedrosa JM, Suárez A, Ros E, Mataix J, Gil A. Olive oil and fish oil enriched diets modify plasma lipids and susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in free-living male patients with peripheral vascular disease: the Spanish Nutrition Study. *Br J Nutr.* 1999; 82:31-9.

- Ramírez-Tortosa MC, Suárez A, González MC, Mir A, Ros E, Mataix J, Gil A. Effect of extra virgin olive oil and fish-oil supplementation on plasma lipids and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative alteration in free-living Spanish male patients with peripheral vascular disease. *Clin Nutr.* 1999; 18:167-74.
- Robinson DR, Urakazr M, Huang R, Taki H, Sugiyama E, Knoell CT. Dietary marine lipids suppress continuous expression of interleukin-17 gene transcription. *Lipids.* 1996; 31:23-31.
- SanGiovanni JP, Chew EY. The role of omega 3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Prog Retin Eye Res.* 2005; 24:87-138.
- Serhan CN. Novel eicosanoid and docosanoid mediators: resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2005; 8:115-21.
- Shi Q, Vandeberg JF, Jett C, et al. Arterial endothelial dysfunction in baboons fed a high-cholesterol, high-fat diet. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82:751-9.
- Simopoulos AP, Cleland G (eds). Omega 6/omega 3 Essential Fatty acid ratio; The Scientific Evidence. *World Review of Nutrition and Dietetics.* Basel, Karger, vol 92 (2003).
- Simopoulos AP. Omega 3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr.* 2002; 21:495-505.
- Singh RB, Niaz MA, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of fish oil and mustard oil in patients with suspected acute myocardial infarction: the Indian experiment of infarct survival-4. *Cardiovascular Drugs & Therapy.* 1997; 11:485-91.
- Smit LA, Mozaffarian D, Willett W. Review of fat and fatty acid requirements and criteria for developing dietary guidelines. *Ann Nutr Metab.* 2009; 55:44-55.
- Tapiero H, Ba GN, Couvreur P, Tew KD. Polyunsaturated fatty acids (AGPI) and eicosanoids in human health and pathologies. *Biomed Pharmacother.* 2002; 56:215-22.
- Trebbles TM, Arden NK, Wootton SA, Calder PC, Mullee MA, Fine DR, Stroud MA. Fish oil and antioxidants alter the composition and function of circulating mononuclear cells in Crohn disease. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80:1.137-44.
- Valenzuela R, Bascuñán K, Valenzuela A. Ácido docosahexaenoico (DHA): Una perspectiva nutricional para la prevención de la enfermedad de Alzheimer. *Rev Chil Nutr.* 2008; 35:250-61.
- Wang C, Harris WS, Chung M, Lichtenstein AH, Balk EM, Kupelnick B, et al. n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not alpha-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84:5-17.
- Weldon SM, Mullen AC, Loscher CE, Hurley LA, Roche HM. Docosahexaenoic acid induces an anti-inflammatory profile in lipopolysaccharide-stimulated human THP-1 macrophages more effectively than eicosapentaenoic acid. *J Nutr Biochem.* 2006; 15 June [E ahead of print]. doi:10.1016/j.jnutbio.2006.04.003.
- Wendland E, Farmer A, Glasziou P, Neil A. Effect of alpha linolenic acid on cardiovascular risk markers: a systematic review. *Heart.* 2006; 92:166-9.
- WHO. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. *World Health Organization Technical Report Series.* 916, WHO, Geneva, 2003.
- Wohlers M, Xavier RA, Oyama LM, Ribeiro EB, do Nascimento CM, Casarini DE, Silveira VL. Effect of fish or soybean oil-rich diets on bradykinin, kallikrein, nitric oxide, leptin, corticosterone and macrophages in carrageenan stimulated rats. *Inflammation.* 2005; 29:81-9.
- Wong KW. Clinical efficacy of n-3 fatty acid supplementation in patients with asthma. *Am Diet Assoc.* 2005; 105:98-105.
- Yaqoob P. Lipids and the immune response: from molecular mechanisms to clinical applications. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2003; 6:133-50.
- Zhao Y, Joshi-Barve S, Barve S, Chen LH. Eicosapentaenoic acid prevents LPS-induced TNF-alpha expression by preventing NF-kappaB activation. *J Am Coll Nutr.* 2004; 23:71-8.



# Mecanismos de acción de la grasa dietética en la obesidad, el síndrome de resistencia insulínica y las enfermedades cardiovasculares

**Concepción M.<sup>a</sup> Aguilera García.** *Profesora Titular del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II y miembro del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada.*

## Resumen

La obesidad está asociada al síndrome de resistencia a la insulina (RI) y al denominado síndrome metabólico (SM), caracterizado por hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa o diabetes tipo 2, hipertrigliceridemia, disminución de HDLc y otras alteraciones asociadas a riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) como hipertensión arterial. Este conjunto de alteraciones metabólicas están interconectadas por un nexo común basado en procesos inflamatorios y oxidativos. La obesidad primaria o exógena es un desorden multifactorial, resultado de la interacción del entorno socio-ambiental desfavorable sobre un individuo con una predisposición poligénica que se traduce en un exceso de grasa corporal donde el tejido adiposo juega un papel clave actuando como órgano endocrino y participante de la respuesta inmune que conlleva consecuencias metabólicas antes comentadas. Por tanto, los adipocitos ya no sólo desempeñan un papel crucial en el metabolismo lipídico, sino que además sintetizan una serie de adipocinas (leptina, adiponectina, etc.), citoquinas como el TNF- $\alpha$  y la IL-1, y quimioquinas, como la proteína quimiotáctica de los macrófagos 1 (MCP-1), que conducen a la formación de la placa de ateroma o aterosclerosis en los vasos

sanguíneos que acompañan a la ECV. Además del clásico efecto de la grasa dietética sobre el metabolismo de las lipoproteínas y, por tanto, en el desarrollo de la placa de ateroma, en esta revisión se aborda el papel de estos lípidos sobre moléculas como adipocinas, citoquinas y factores de transcripción, que participan en las vías de señalización relacionadas con inflamación y la acción de la insulina, y con los procesos de adipogénesis. En este sentido, los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de la dieta, en especial los de la serie n-3 (AGPI n-3), parecen jugar un papel destacado como protectores frente al SM, a través de varios mecanismos: a) activación de la quinasa activada por AMPc (AMPK) que estimula el catabolismo lipídico e inhibe la lipogénesis en hígado y tejido adiposo, reduciendo la deposición lipídica y mejorando la señalización de la insulina; b) inducción de la producción de adiponectina; c) acción antiinflamatoria por la regulación de la expresión génica a través de los factores de transcripción, como los receptores activadores del proliferador de peroxisoma (PPARs) y el factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), además de la producción de eicosanoides que reducen la producción de citoquinas. Por el contrario, la grasa saturada sérica procedente tanto de la dieta como de la lipólisis adipocitaria provoca la activación de

Toll-like receptor (TLR) 2 y TLR4, que, a través de la activación de la cascada de quinasas (MAPK) y factores de transcripción como el NF- $\kappa$ B, induce la producción de citoquinas, quimoquinas y moléculas de adhesión que agravan la formación de la placa de ateroma, además del desarrollo de resistencia a la insulina en hígado y músculo.

## Introducción

El sobrepeso y la obesidad representan uno de los problemas de salud pública más importantes en los próximos años. Actualmente, el exceso de peso supone la sexta causa de muerte en el mundo (FAO/WHO 2002; Haslam & James, 2005). La obesidad se asocia a una inflamación de bajo grado en el tejido adiposo blanco que provoca una activación del sistema inmune, lo que permite el desarrollo de resistencia a la insulina (RI), intolerancia a la glucosa e incluso diabetes (Bastard *et al.*, 2006; Gil *et al.*, 2007; Hotamisligil, 2006).

La obesidad se asocia con el síndrome metabólico (SM) (Reaven, 1995, 2005), caracterizado por hiperinsulinemia y resistencia periférica a la acción de la insulina, intolerancia a la glucosa o diabetes tipo 2, hipertrigliceridemia, HDL-c baja y otras alteraciones relacionadas con el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular, como la hipertensión arterial (Alberti *et al.*, 1999; Reaven, 2005). El uso de numerosas definiciones del SM ha llevado a obtener un amplio rango de prevalencias de SM según la definición usada y, por tanto, conlleva a inconsistencias, confusiones y a un debate de cómo se debe definir el SM. En respuesta a esta contro-

versia, la International Diabetes Federation (IDF) ha propuesto una nueva definición, que se puede aplicar a todas las poblaciones del mundo y que anima al desarrollo de un criterio definitivo para considerar la presencia o no de SM y que ayudará a resolver dudas hasta ahora arrastradas por numerosas entidades (Zimmet *et al.*, 2005).

La RI parece ser la alteración más común presente en sujetos con obesidad, intolerancia a la glucosa o diabetes tipo 2, hipertensión y/o dislipidemia (Goldstein, 2002). Se mantiene que la RI es el factor inicial que dispara la cascada metabólica, también influenciada por factores genéticos y ambientales (Gil *et al.*, 2007). La combinación de RI e hiperinsulinemia incrementa el desarrollo de un abanico de anomalías relacionadas, que se podría diagnosticar como síndrome RI (Reaven, 2005; Goldstein, 2002). Entre los hechos comunes de la obesidad central y el SM se incluyen: un incremento de las VLDL y de los triglicéridos (TG) (Brunzell & Hokanson, 1998), la presencia de LDL pequeñas y densas, un incremento de apolipoproteína B (apoB), un descenso de apo A-I y una homeostasis alterada debido a un aumento de fibrinógeno y del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) (Aguilera *et al.*, 2008; Reaven, 2005). Igualmente, el contenido de HDL colesterol desciende, mientras que el de VLDL y LDL se eleva (Aguilera *et al.*, 2008).

El tejido adiposo clásicamente considerado como el principal órgano de reserva grasa, actualmente se le ha atribuido otras propiedades como órgano endocrino y participante de la respuesta inmune. Por lo que los adipocitos ya no sólo desempeñan un papel crucial en la regulación de la

síntesis y degradación de los triglicéridos, sino que además sintetizan una serie de adipocinas que van desde la leptina, hormona reguladora de la ingesta dietética, a la adiponectina, una hormona que aumenta la sensibilidad a la insulina, pasando por factores implicados en la hemodinámica vascular, citoquinas, como el TNF- $\alpha$  y la IL-1, y quimioquinas, como la proteína quimiotáctica de los macrófagos 1 (MCP-1) (Hotamisligil, 2006; Tilg & Moschen, 2006). Derivado de la actividad de los adipocitos y de otras células, como macrófagos y linfocitos T infiltrados y reclutados por el tejido adiposo, se afirma que la obesidad se caracteriza por un estado de inflamación de bajo grado (Weisberg *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2007). En los últimos años se han caracterizado varias adipocinas, citoquinas y quimioquinas, así como una serie de vías de señalización celular que relacionan el metabolismo del tejido adiposo con el del sistema inmunológico.

Revisiones recientes han documentado el papel de la dieta en el desarrollo de la RI tanto en animales como en adultos (Cañete *et al.*, 2007; Kretchmer, 2005; McAuley & Mann, 2006). Sin embargo, son escasos los datos sobre cómo nutrientes específicos de la comida pueden afectar a la RI. El continuo incremento de la incidencia de la diabetes tipo 2 y la obesidad se atribuye a la ingesta excesiva de calorías y en particular a un dramático aumento del consumo de comida rápida (Isganati & Lustig, 2005; Pereira *et al.*, 2005). Ésta se caracteriza por su alto contenido en ácidos grasos saturados y *trans*, azúcares simples, así como un bajo contenido en fibra. En cambio, la relación entre el consumo de comidas energéticas y la RI

sólo está basada en estudios observacionales. Hasta ahora se desconoce si este es un efecto propio de la comida o si se debe a un mayor peso corporal o masa grasa. Además es necesario considerar que la genética también puede influir en el desarrollo de la RI (Cañete *et al.*, 2007; Gil *et al.*, 2007).

La ingesta calórica y la distribución de los macronutrientes en una alimentación habitual tienen un papel fundamental en el balance energético y el control del peso corporal; por ello, la investigación sobre nuevas estrategias dietéticas para el tratamiento de la obesidad y sus complicaciones son tema de gran interés entre los investigadores y los clínicos (Abete *et al.*, 2006; Zulet *et al.*, 2005). En este contexto, diversos estudios epidemiológicos muestran la relación entre la dieta habitual y los marcadores inflamatorios y de oxidación relacionados con el SM (Inhof *et al.*, 2004; Devaraj *et al.*, 2008). Así, además de la valoración de la pérdida de peso y grasa corporales y de los criterios clínicos del SM, actualmente se busca en los estudios de intervención nutricional la mejora del estado inflamatorio y de oxidación relacionado con la obesidad y el SM (Baer *et al.*, 2004; Pérez-Martínez *et al.*, 2010; Jiménez-Gómez *et al.*, 2010).

Los cambios en la cantidad y calidad de la grasa de la dieta impactan sobre muchos procesos fisiológicos, en distintos tipos celulares. Muchos de los efectos de la grasa de la dieta se relacionan con cambios en la composición lipídica de las membranas, que afectan a su fluidez y a funciones de señalización, incluyendo la sensibilidad a señales extracelulares que interaccionan con receptores de membrana y la producción de moléculas reguladoras (por ejem-

plo, eicosanoides) derivadas de lípidos de membrana. Por otro lado, determinados ácidos grasos y derivados modulan la actividad y/o abundancia de una serie de factores de transcripción que, en conjunto, controlan genes críticos para la oxidación de ácidos grasos, la lipogénesis y la termogénesis y la inflamación. En esta revisión se tratarán los mecanismos de acción de la grasa de la dieta a través de este segundo aspecto, es decir, la modulación de la expresión génica, detallando y clasificando los factores de transcripción y receptores celulares que se ven afectados de manera directa o indirecta por determinados ácidos grasos de la dieta.

## Efectos de los ácidos grasos sobre la obesidad y el síndrome metabólico

Los efectos de la grasa dietética sobre el peso corporal, el perímetro de cintura, la composición de grasa corporal, así como otros marcadores del metabolismo lipídico, se han estudiado de manera más clásica, y se revisan en detalle en Melanson *et al.* (2009). En este apartado se destacarán los efectos de los distintos tipos de ácidos grasos sobre biomarcadores de daño endotelial, adipoquinas, RI e inflamación.

### Ácidos grasos saturados y ácidos grasos *trans*

La grasa saturada dietética puede modular la expresión génica de biomarcadores relacionados con el desarrollo de SM y RI, como son las adipoquinas, moléculas de inflamación, como es la proteína C reactiva (PCR), interleuquinas y moléculas de adhesión vascular. En ratas, la ingesta de

una dieta rica en ácidos grasos saturados (AGS) (5 g/100 g de dieta) produjo un aumento en la expresión de ARNm de la resistina y una reducción en la expresión de la adiponectina y del GLUT-4, mientras que la ingesta de una dieta rica en ácidos grasos *trans* AGt (1,5 g/100 g de dieta) produjo una sobreexpresión de la resistina y una expresión reducida del receptor activador del proliferador de peroxisomgamma (PPAR), lo que corrobora el efecto de estos ácidos grasos en el desarrollo de la RI (Saravanan *et al.*, 2005).

Además, en estudios epidemiológicos se ha obtenido una correlación positiva entre la ingesta de AGS y las concentraciones circulantes de PCR (Baer *et al.*, 2004; Arya *et al.*, 2006). La mayor ingesta de AGt también se relacionó con mayores concentraciones de biomarcadores inflamatorios, como TNF, IL-6 y PCR (Mozaffarian *et al.*, 2004), y marcadores de la función endotelial, como VCAM-1 e ICAM-1, en individuos con sobrepeso (López-García y Hu, 2004). De este modo, los AGS y AGt podrían estar involucrados en el desarrollo del proceso proinflamatorio que acompaña al SM.

En pacientes con hipercolesterolemia, una dieta baja en AGS [el 30% del valor calórico total (VCT) en lípidos, de los que el 5% fueran AGS] durante 8 semanas produjo en estos sujetos una reducción significativa de las concentraciones de PCR respecto a los valores basales (Pirro *et al.*, 2004). En pacientes con sobrepeso e hipercolesterolemia moderada, la ingesta de una margarina hidrogenada de soja que representaba el 30% del VCT [el 8,5% en AGS; el 6,7% en AGt; el 8,5% en ácidos grasos monoinsaturados (AGM) y el 6,3% del VCT en ácidos grasos poliin-

saturados (AGPI)] llevó a un aumento significativo de las concentraciones plasmáticas de TNF e IL-6 respecto al consumo del mismo contenido calórico en forma de aceite de soja (el 7,3% en AGS; el 0,6% en AGt; el 8,1% en AGM y el 12,5% del VCT en AGPI) tras 32 días (Han *et al.*, 2002). A su vez, en una dieta con una distribución en macronutrientes del 47% del VCT en hidratos de carbono, el 15% en proteínas y el 39% en lípidos, la ingesta del 8% de los lípidos en forma de AGt produjo un aumento en las concentraciones de PCR y selectina-E respecto a la sustitución de los AGt por hidratos de carbonos o ácido oleico (Baer *et al.*, 2004).

Los posibles mecanismos de acción de estos ácidos grasos en la inflamación y la función endotelial están relacionados con su incorporación a los fosfolípidos de las membranas celulares del endotelio vascular, monocitos, macrófagos y adipocitos, que alteran la función de receptores específicos de estas células y vías de señalización y transcripción que se detallan en el siguiente apartado. Así, un aumento de la ingesta de AGS y AGt, además de favorecer un perfil lipídico aterogénico, parece aumentar el riesgo de RI y ECV por mecanismos proinflamatorios.

### **Ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados**

De entre los AGMI, el ácido oleico es el principal componente, y el aceite de oliva y las nueces son importantes fuentes de este ácido graso, principalmente en la dieta mediterránea. La sustitución de los AGS por los AGMI tiene efecto beneficioso en el perfil lipídico, con una reducción de las concentraciones de cLDL y triglicéridos, manteniendo altas las concentraciones de

cHDL, y tiene un importante papel en la prevención de la arteriosclerosis (Melan-son *et al.*, 2009).

Estudios observacionales han descrito una asociación inversa de la ingesta de aceite de oliva con la ganancia de peso en individuos sanos (Bes-Rastrollo *et al.*, 2006) y con la expresión de TNF y VCAM-1 (Serrano-Martínez *et al.*, 2005), así como con el desarrollo de aterosclerosis (Buil-Cosiales *et al.*, 2008), en individuos con alto riesgo de ECV. El consumo durante 4 semanas de dietas ricas en AGMI, teniendo como fuente las nueces (45-60 g), produjo reducciones en la expresión de VCAM-1 en pacientes hipercolesterolémicos (Ros *et al.*, 2004). En individuos con sobrepeso, una dieta con el 39% del VCT en lípidos (de los cuales el 8% era ácido oleico), el 15% en proteínas y el 47% en hidratos de carbono llevó a una reducción significativa en las concentraciones de IL-6 respecto a su sustitución por AGS (el 8% del VCT) y con una misma proporción total de lípidos (Baer *et al.*, 2004). Además, la ingesta de 500 ml/día de leche enriquecida con ácido oleico (5,7 g), entre otros componentes, disminuyó las concentraciones de triglicéridos, colesterol total y cLDL en pacientes con SM y también las concentraciones de PCR en pacientes con ECV (Benito *et al.*, 2006).

Se está investigando mucho sobre el papel de los AGPI en el estado inflamatorio y en el desarrollo de ECV y SM. Entre ellos destacan los ácidos grasos omega-3 [alfalinolénico (ALA), eicosapentanoico (EPA), docosahexaenoico (DHA)] y los ácidos grasos omega-6 [linoleico (LA)], ambos nutrientes esenciales. EPA y DHA se encuentran preferentemente en los pescados y sus aceites, mientras que el

ALA, un precursor de esos dos, tiene como fuentes los aceites de canola, soja y linaza, y las nueces. En un metaanálisis de 14 estudios clínicos aleatorizados, 25 estudios prospectivos de cohorte y 7 de casos y controles, la ingesta de omega-3 procedente de pescados y aceite de pescado se asoció inversamente a la mortalidad súbita o por ECV (Wang *et al.*, 2006). Mientras que los AGPI n-6 ejercen una acción proinflamatoria, especialmente el ácido araquidónico (AA) y el LA se pueden considerar como ácidos grasos aterogénicos, ya que activan la expresión génica de las citoquinas mediadoras de la respuesta inmune en la pared vascular al incrementar el estrés oxidativo.

Los ácidos grasos EPA y DHA reducen la producción de prostaglandinas y leucotrienos proinflamatorios originados en el metabolismo del AA, lo que indica su relevancia en el estado inflamatorio. Además pueden influir en otros aspectos de la patogenia de las ECV, como el perfil lipídico sérico, la oxidación de estos lípidos, la agregación plaquetaria y la arritmia. Sin embargo, los mecanismos biológicos antiinflamatorios y antiaterogénicos no están claramente establecidos, de modo que la hipótesis de que los omega-3 son moduladores de otros biomarcadores inflamatorios y de la disfunción endotelial asociados a la obesidad y al SM continúa siendo investigada.

Así, en una población sana, la menor ingesta de ALA se asoció a mayores concentraciones de PCR, mientras la menor ingesta de EPA está asociada a mayores concentraciones de IL-6. Igualmente, en esta población, la ingesta total de ácidos grasos omega-3 estuvo inversamente asociada con las concentraciones de IL-6,

TNF, IL-1 (Ferruchi *et al.*, 2006), PCR, VCAM-1, ICAM-1 y selectina-E (López-García *et al.*, 2004). La suplementación con EPA a 1 g/kg de peso en ratas obesas por dieta de cafetería llevó a una menor ganancia de peso y menor expresión de TNF, al mismo tiempo que la expresión de adiponectina se presentó aumentada (Pérez-Matute *et al.*, 2007). Las concentraciones de PCR e IL-6 se redujeron el 38 y el 10,5%, respectivamente, tras la ingesta diaria de 15 ml de aceite de linaza (rico en ALA) durante 3 meses en pacientes dislipidémicos; sin embargo, las concentraciones de estos marcadores no se modificaron tras ingesta de 15 ml de aceite de girasol (rico en LA) (Rallidis *et al.*, 2003). Otro estudio con pacientes hipercolesterolémicos también encontró un mayor efecto antiinflamatorio tras el consumo de una dieta rica en ALA (ALA, 6,5; LA, 10,5% del VCT), comparada con la de otra rica en LA (ALA, 3,6%; LA, 12,5% del VCT), evidenciada por la reducción significativa de PCR, VCAM-1 y selectina-E (Zhao *et al.*, 2004). Además, seguir durante 8 semanas dietas hipocalóricas para la pérdida de peso, variando el tipo de pescado o aceite (aceite de girasol frente a bacalao, frente a salmón, frente a aceite de pescado) y con misma distribución energética de hidratos de carbono, proteínas y lípidos (el 50, el 20 y el 30% del VCT, respectivamente), produjo una mayor y significativa pérdida de peso y circunferencia de la cintura en los individuos que consumieron pescado blanco o salmón (tres raciones de 150 g/semana) o aceite de pescado (seis cápsulas/semana), respecto a la dieta control (seis cápsulas placebo/semana) (Thorsdottir *et al.*, 2007), lo que indica que su inclusión en

un plan dietético podría tener efecto beneficioso en el tratamiento de la obesidad y las complicaciones propias del SM.

## Mecanismos de acción de la grasa dietética. Modulación de la expresión génica

La regulación de la expresión de los genes está determinada por una serie de moléculas que en su conjunto modulan la activación o la represión de un gen o de un grupo de genes. Esta regulación requiere de diferentes receptores nucleares, que en la forma de homodímeros o heterodímeros interactúan con el DNA en lugares específicos denominados dominios de interacción del DNA. La unión del receptor al DNA es determinada por la presencia de ligandos específicos. El resultado final de este complejo proceso produce la activación o la represión de la expresión de un gen. Numerosas moléculas actúan como ligandos de receptores nucleares, siendo los ácidos grasos y sus derivados uno de los ligandos de origen nutricional más importantes.

Se han identificado factores de transcripción específicos en los mamíferos, que responden a los lípidos de la dieta. Éstos incluyen al menos a siete grandes familias de factores: los llamados receptores activadores de la proliferación peroxisomal (PPAR), PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\beta$ , PPAR- $\delta$  y PPAR- $\gamma$ ; tres variantes de las proteínas de unión al elemento de respuesta a los esteroides (SREBP), denominadas SREBP-1a, SREBP-1c y SREBP-2; el factor nuclear 4 de los hepatocitos (HNF-4); los receptores X hepáticos (LXR), LXR- $\alpha$  y LXR- $\beta$ ; las proteínas de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (ChREBP); el factor nuclear kappa B

(NF- $\kappa$ B), y receptores análogos a Toll (Toll-like receptors, TLR).

Los ácidos grasos libres unidos a la proteína de unión a ácidos grasos (FABP), acilCoA o algunos metabolitos de los ácidos grasos, como los eicosanoides, pueden:

- Inducir una cascada de sucesos que llevan a una modificación covalente de un factor de transcripción, por ejemplo, la fosforilación, alterando la capacidad de transactivación.
- Unirse directamente y activar un factor de transcripción.
- Influir sobre la tasa de transcripción de un factor de transcripción y sobre su síntesis.
- Modificar la estabilidad del mRNA tanto de factores de transcripción como de otros genes diana.

Los efectos de los ácidos grasos están mediados, bien directamente por su unión específica a varios receptores nucleares (PPAR, LXR, HNF-4 $\alpha$ ) produciendo cambios en la activación *trans* de esos factores de transcripción, bien indirectamente por cambios en la abundancia de factores reguladores de la transcripción (SREBP-1c, ChREBP, etc.). Por otra parte, los factores de transcripción sensibles a ácidos grasos se unen a una secuencia de reconocimiento o elemento de respuesta a ácidos grasos en el promotor de una región de un gen diana, como monómeros, como homodímeros o como heterodímeros, con otros factores de transcripción, por ejemplo, los receptores del retinol (RXR).

La tabla 1 (tomada de Gil *et al.*, 2010) muestra los ligandos y las funciones de los factores de transcripción principales acti-

**Tabla 1. Ligandos y funciones de los principales factores de transcripción activados por lípidos**

Factor de transcripción	Ligando	Modo de activación	Genes implicados y funciones
PPAR- $\alpha$	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AGPI n-3.</li> <li>• AGPI n-6.</li> <li>• Eicosanoides.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Interacción directa con lípidos.</li> <li>• Heterodimerización con RXR.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Apo A-I, apo A-II, apo C-III (transporte de lipoproteínas).</li> <li>• FABP (transporte intracelular de ácidos grasos).</li> <li>• CPT-1 (entrada de los ácidos grasos a la mitocondria).</li> <li>• Acil-CoA oxidasa (<math>\beta</math>-oxidación peroxisomal).</li> <li>• Acil-CoA deshidrogenasa (<math>\beta</math>-oxidación mitocondrial).</li> </ul>
PPAR- $\gamma$	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AGPI n-3.</li> <li>• AGPI n-6.</li> <li>• Eicosanoides.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Interacción directa con lípidos.</li> <li>• Heterodimerización con RXR.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FABP, FATP, CD36 (transporte de ácidos grasos).</li> <li>• LPL (hidrólisis de lipoproteínas).</li> <li>• Acil-CoA sintasa (lipogénesis).</li> <li>• UCP (termogénesis).</li> <li>• TNF-<math>\alpha</math> (citoquina proinflamatoria).</li> <li>• Leptina (regulador de la saciedad).</li> </ul>
PPAR- $\delta$	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AGPI n-3.</li> <li>• AGPI n-6.</li> <li>• Eicosanoides.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Interacción directa con lípidos.</li> <li>• Heterodimerización con RXR.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FABP (transporte de ácidos grasos.)</li> <li>• Ciclooxygenasa (síntesis de prostaglandinas y otros eicosanoides).</li> </ul>
SREBP-1a	<ul style="list-style-type: none"> <li>• LXR activados.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Procesamiento de SREBP ligadas al retículo endoplásmico por aumento del colesterol intracelular.</li> <li>• Activación o inhibición transcripcional por heterodimerización con RXR.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Genes implicados en la síntesis de colesterol, ácidos grasos y triglicéridos.</li> </ul>
SREBP-1c	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agonistas: LXR activados, glucagón e insulina, oxiesteroles (activadores).</li> <li>• Antagonistas: AGPI.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Procesamiento de SREBP ligadas al retículo endoplásmico por aumento del colesterol intracelular.</li> <li>• Activación o inhibición transcripcional por heterodimerización con RXR.</li> <li>• Interacción con HNF-4<math>\alpha</math>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Genes necesarios para la síntesis de ácidos grasos hepática y para la síntesis de NADPH.</li> <li>• ATP-citrato liasa o enzima málica ACC, FAS, SCD-1, <math>\Delta 6</math> y <math>\Delta 5</math>-desaturasas, y elongasa de ácidos grasos de cadena larga y GPAT.</li> </ul>
SREBP-2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• LXR activados, glucagón e insulina, oxiesteroles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Procesamiento de SREBP ligadas al retículo endoplásmico por aumento del colesterol intracelular.</li> <li>• Activación o inhibición transcripcional por heterodimerización con RXR.</li> <li>• Interacción con HNF-4<math>\alpha</math>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Genes implicados en la síntesis de colesterol y de NADPH.</li> <li>• HMG-CoA sintasa, HMG-CoA reductasa, FPP sintasa y escualeno sintasa y genes que participan en la captación de lipoproteínas de baja densidad (receptor LDL).</li> </ul>

Tabla 1 (continuación).

Factor de transcripción	Ligando	Modo de activación	Genes implicados y funciones
LXR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agonistas: glucosa y oxisteroles.</li> <li>• Antagonistas AGPI n-3 y n-6.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Interacción directa con oxisteroles, glucosa y AGPI.</li> <li>• Competición con AGPI y heterodimerización con RXR y con PPAR.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CYP7A (metabolismo de ácidos biliares).</li> <li>• CETP (intercambio de colesterol).</li> <li>• SREBP-1c que afecta a las enzimas lipogénicas FAS, SCD-1, ACC, enzima málica y G6PDH.</li> <li>• Transportadores ABC.</li> </ul>
HNF-4 $\alpha$	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agonistas AGCC (14-16).</li> <li>• Antagonistas: esteárico, AGPI n-3 y n-6.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Interacción directa con lípidos activados (acil-CoA).</li> <li>• Homodimerización.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Apo A-I, apo B, apo C-III (transporte de lipoproteínas).</li> <li>• FABP (transporte de ácidos grasos).</li> <li>• Acil-CoA deshidrogenasa (oxidación mitocondrial de ácidos grasos).</li> <li>• HNF-1<math>\alpha</math>/RXR (factores de transcripción).</li> <li>• CYP3A4-6 (citocromos P-450 de hidroxilación peroxisómica).</li> </ul>
NF- $\kappa$ B	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Indirectos.</li> <li>• Agonistas: TNF-<math>\alpha</math>, IL-1.</li> <li>• Antagonistas: AGPI.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fosforilación y degradación proteolítica de <math>\kappa</math>B y traslocación nuclear.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Citoquinas proinflamatorias, COX-2.</li> </ul>
TLR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agonistas: lipopolisacáridos, lipopéptidos, peptidoglucanos, RNA, flagelina y motivos CpG bacterianos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ácidos grasos saturados.</li> <li>• Antagonistas: AGPI.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Activación de la vía de los TLR por interacción con dominios TIR (Toll/receptor de la IL-1).</li> <li>• Factor nuclear kappa B (NF-<math>\kappa</math>B).</li> </ul>

ABC: transportadores de colesterol tipo "cassettes" de unión a ATP; ACC: acetil-CoA carboxilasa; AGCC: ácidos grasos de cadena corta; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; CETP: proteína de transferencia de ésteres de colesterol; COX-2: ciclooxigenasa 2; CPT-1: carnitina-palmitoil transferasa 1; EM: enzima málica; FABP: proteína de unión a ácidos grasos; FAS: ácido graso sintasa; FATP: proteína transportadora de ácidos grasos; FPP sintasa: farnesil-pirofosfato sintasa; G6PDH: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; GPAT: glicerol-3-fosfato aciltransferasa; CpG: dinucleótidos citosina-fosfato-guanina; HMG-CoA sintasa: 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A sintasa; HMG-CoA reductasa: 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa; HNF: factor nuclear de los hepatocitos;  $\kappa$ B: inhibidor del NF- $\kappa$ B; IL: interleuquina; LDL: lipoproteínas de baja densidad; LXR: receptor hepático X; NADPH: nicotinamida adeninucleótido-fosfato reducido; NF- $\kappa$ B: Factor nuclear kappa de leucocitos B; LPL: lipoproteína lipasa; PPAR: receptor activado por la proliferación de los peroxisomas; RXR: receptores del ácido retinoico; SCD-1: estearoil-coenzima A desaturasa 1 o  $\alpha$ 9-desaturasa; SREBP: proteína de unión a elementos de respuesta regulados por esteroides; TLR: receptores análogos a Toll; TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ; UCP: proteína desacoplante de la fosforilación oxidativa. (Tabla tomada del cap. 31. Gil et al. Tratado de Nutrición. 2010).

vados por los lípidos. Asimismo, la figura 1 (tomada de Gil et al., 2010) muestra los principales efectos sobre la expresión génica de los AGPI, indicando los factores de transcripción implicados.

A nivel celular, la respuesta fisiológica a los ácidos grasos depende de la cantidad y la estructura química de la grasa ingerida, del metabolismo de ácidos grasos específico de tipos celulares concretos (vías oxi-

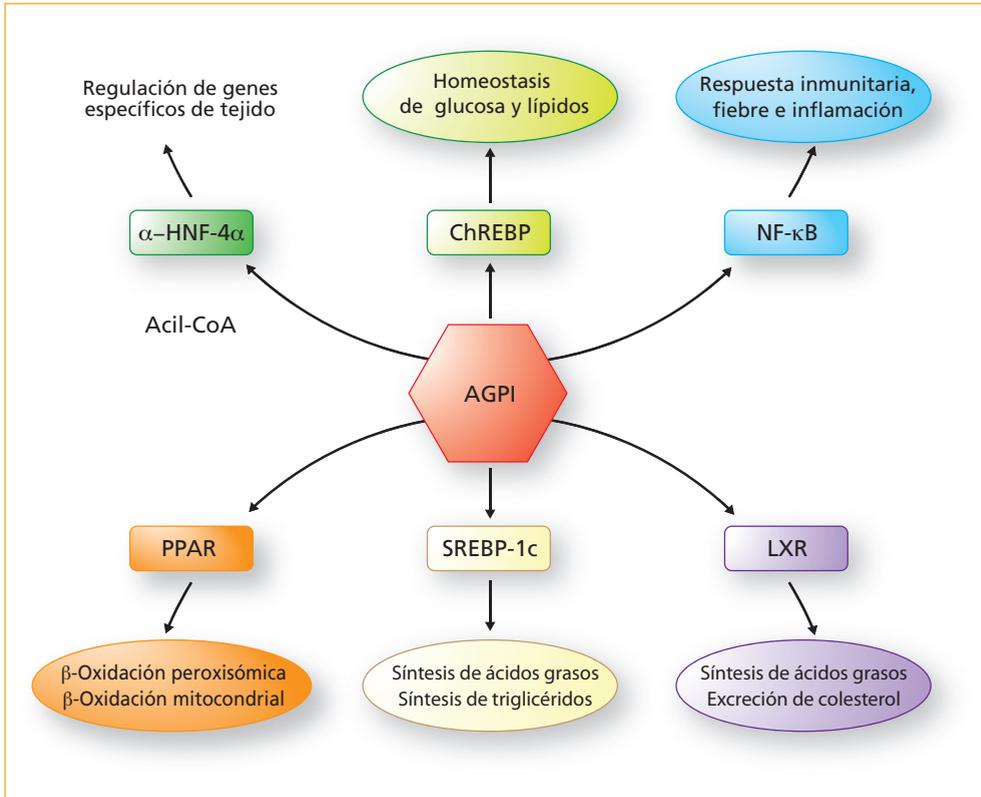


Figura 1. Influencia de los ácidos grasos poliinsaturados sobre la expresión génica. AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; ChREBP: proteína de unión al elemento de respuesta a hidratos de carbono (ChRE); HNF-4α: factor nuclear 4α de los hepatocitos; LXR: receptor hepático X; NF-κB: factor nuclear κ de los linfocitos B; PPAR: receptor activado por proliferadores de los peroxisomas; SREBP-1C: proteína 1c de unión a elementos de respuesta regulados por esteroides. (Figura tomada del cap. 31. Gil et al., Tratado de Nutrición. 2010).

dativas, cinética y reacciones competitivas), de la abundancia celular de los receptores de membrana y nucleares y de la implicación de factores específicos de transcripción.

Los mecanismos de regulación de la expresión génica mediada por ácidos grasos están implicados en el control del metabolismo de los hidratos de carbono y de los lípidos, en el crecimiento y la diferenciación celular, y en la producción de citoquinas, moléculas de adhesión y eicosanoides, que regulan numerosos proce-

sos fisiológicos y fisiopatológicos, incluidas la respuesta inmunitaria y la inflamación. De esta manera los AGPI, en forma directa o indirecta, a través de sus metabolitos, ejercen diferentes efectos a través de su acción sobre distintos receptores nucleares o factores de transcripción, produciendo modificaciones en la sensibilidad a la insulina del músculo y del tejido adiposo, en el contenido de triglicéridos del tejido adiposo y en la actividad de los transportadores GLUT. Además, modulan procesos inflamatorios, disminuyen la divi-

sión celular, y regulan los procesos que conducen a la apoptosis, todos estos son mecanismos implicados en el desarrollo de la obesidad, la RI y el SM. A continuación se considera la regulación de la expresión génica mediada por lípidos, agrupada en función de los tipos de receptores afectados.

### **Receptores activadores de la proliferación (PPAR)**

Los PPAR constituyen una superfamilia de receptores nucleares que regulan los efectos —a nivel del control de la expresión génica— de las hormonas esteroideas, los glucocorticoides, la tiroxina, el ácido retinoico y la vitamina D. Se conocen tres isoformas de los PPAR, denominadas alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) y gamma ( $\gamma$ ), y que son codificadas por genes individuales con alto grado de similitud estructural (Wilson *et al.*, 2000).

El PPAR- $\alpha$  se expresa principalmente en el hígado, el tracto digestivo, la glándula suprarrenal y el riñón. El PPAR- $\beta$  se expresa prácticamente en todos los tejidos, aunque sus niveles son comparativamente mayores en el músculo cardiaco y en el tejido nervioso (en particular, en el cerebelo). El PPAR- $\gamma$  se expresa, sobre todo, en el tejido adiposo pardo y blanco, y en niveles más bajos en el bazo, el intestino y los ganglios linfáticos (Wilson *et al.*, 2000). Los ligandos, al unirse a los PPAR, los transforman en activadores transcripcionales, los cuales, al asociarse al receptor del ácido 9-*cis*-retinoico (RXR) (otro activador transcripcional), forman un heterodímero que se une a secuencias específicas del DNA, presentes en los genes bajo control, y que estimulan la transcripción del gen o los genes controlados por estas

secuencias (Keller *et al.*, 1993). Se ha descrito que los AGPI n-3 y n-6, así como los eicosanoides derivados de estos ácidos grasos (y, probablemente, los docosanooides derivados del DHA), pueden unirse específicamente a PPAR, actuando así como reguladores de la expresión de genes (Kliwer *et al.*, 1997; Krey *et al.*, 1997).

El LA, el DHA, el AA y el LTB<sub>4</sub> son activadores del PPAR- $\alpha$ . El PPAR- $\beta$  es activado sólo por el LA y el DHA, en tanto que el PPAR- $\gamma$  sólo es activado por el DHA. Destaca el hecho de que el EPA no actúe como ligando de PPAR, lo cual es otra evidencia de su función sólo como intermediario en la síntesis del DHA. El efecto de estos ácidos grasos como ligandos de PPAR está vinculado con numerosas funciones bioquímicas relacionadas con la obesidad y el SM (Fievet *et al.*, 2006). La activación del PPAR- $\alpha$  estimula la oxidación de ácidos grasos en tejidos que se caracterizan por su alta utilización de ácidos grasos como sustratos energéticos (hígado, corazón, riñones, tejido adiposo pardo). Mientras que el PPAR- $\gamma$  regula el proceso de adipogénesis, activando la diferenciación de las células precursoras de los adipocitos (preadipocitos) y favoreciendo la acumulación de triglicéridos en los adipocitos maduros (Wang *et al.*, 2003; Fievet *et al.*, 2006).

Se ha propuesto que sólo los efectos estimulantes de la transcripción de genes producida por los ácidos grasos son mediados a través de los PPAR. Los efectos inhibidores de la transcripción ejercidos por los ácidos grasos serían PPAR-independientes. Esto significa que podrían existir factores específicos de regulación, para producir la inhibición de la transcrip-

ción por los ácidos grasos, diferentes de los PPAR. Incluso, se postula que el ligando o los ligandos de los PPAR no serían los ácidos grasos como tales, sino algunos metabolitos de éstos, como los eicosanoides (y docosanoides). El efecto inhibitorio de la diferenciación de los preadipocitos a adipocitos que producen los AGPI n-3 es regulado por prostaglandinas que no utilizan los PPAR como factores de regulación de la expresión génica.

El tipo de ácidos grasos de la dieta guarda estrecha relación con la actividad de los PPAR como reguladores transcripcionales. Es así que dietas ricas en AGS y en AGT y que aportan bajas cantidades de AGPI n-6 y n-3 producen diferentes efectos a nivel de los distintos PPAR. La falta de estimulación del PPAR- $\alpha$  por ligandos derivados de ácidos grasos produce una disminución de la  $\beta$ -oxidación mitocondrial, así como de la  $\beta$ -oxidación peroxisomal. Al inhibirse la  $\beta$ -oxidación mitocondrial, aumenta la disponibilidad de ácidos grasos para depósito. La inhibición de la  $\beta$ -oxidación peroxisomal impide la formación de AGPI, en particular de DHA. Además, la falta de estímulo sobre el PPAR- $\gamma$  disminuye el efecto inhibitorio de este factor transcripcional sobre la adipogénesis, con lo cual se produce el efecto contrario, un aumento de la adipogénesis. Como consecuencia del desequilibrio en el aporte de AGE, se modifica la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos de las membranas celulares, ya que la menor disponibilidad de AA, EPA o DHA producirá cambios en la respuesta de receptores y enzimas cuya actividad está asociada a las membranas. Estas modificaciones a nivel molecular tienen su expresión en estados metabólicos alterados, como es el aumento de la RI, lo

cual, a su vez, redundará en un mayor riesgo de enfermedades como la obesidad, la diabetes tipo 2 y las dislipidemias.

Además, la activación de PPAR- $\gamma$  se ha relacionado con una acción antiinflamatoria debido a la inhibición de genes como el TNF- $\gamma$ , IL-1 $\gamma$ , IL-6, IL-8, ciclooxigenasa 2, VCAM-1, iNOS y metaloproteasas. Se han propuesto dos mecanismos antiinflamatorios de los PPAR: por un lado, los PPAR pueden estimular la eliminación de eicosanoides inflamatorios a través de la inducción de la  $\beta$ -oxidación peroxisomal, y, por otro lado, inactivando otros factores de transcripción, como NF- $\kappa$ B, obstaculizando la unión a sus respectivas dianas.

Las principales vías de intervención del PPAR- $\gamma$  en la reacción inmune inflamatoria es mediante la regulación del NF- $\kappa$ B y la línea estrés-quinasa. En el primer caso, mediante la unión de las subunidades p65 y p50 al complejo, impidiendo la degradación de I $\kappa$ B o bloqueando coactivadores de p65. En el caso de la regulación de la cascada de quininas (MAPK) se produce por una reducción del terminal quinasa c-jun-NH<sub>2</sub>, activación del p38, interaccionando por ello con el FT c-jun o por inhibición de c-fos. Todo ello conlleva una reducción de la proliferación y migración celular. Finalmente, puede unirse al factor nuclear de linfocitos T activados (NFAT), bloqueando la secreción de IL-2 (Cabrero *et al.*, 2002; Szanto y Nagy, 2002).

Como resultado de sus diferentes vías de actuación, la activación del PPAR- $\gamma$  produce una inhibición de la secreción de citoquinas inflamatorias IL-1, 6, 8, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , inhibición de los mediadores de inflamación iNOS, gelatinasa B, etc., y una disminución de la proliferación y migra-

ción celular, con disminución de la expresión de moléculas de adhesión como VCAM-1. También se ha descrito una inhibición de la infiltración y activación de los macrófagos (Ricote *et al.*, 1998); este hecho es de gran interés en el estudio de la obesidad y sus comorbilidades, ya que, como se ha comentado anteriormente, está demostrada una mayor presencia de macrófagos en el tejido adiposo de obesos, hecho que activa una respuesta inflamatoria.

### **Factor nuclear kappa B (NF-κB)**

Además de la acción antiinflamatoria de los AGPI n-3 a través de la activación del PPAR-γ y, por tanto, la inhibición del NF-κB antes comentado, estos ácidos grasos pueden actuar de forma directa sobre el propio NF-κB. El NF-κB es un factor de transcripción fundamental en la producción de factores inflamatorios dentro de la vía de las IκB quinasas (IKKs), relacionada recientemente con la inflamación y el desarrollo de la RI (Hotamisligil, 2006; Guilherme *et al.*, 2008). La activación de la IKKβ provoca la inducción del NF-κB. En condiciones normales, el NF-κB se encuentra en el citoplasma unido a IκBα e IκBβ, impidiendo su paso al núcleo celular. Al estimularse esta vía, se produce fosforilación de IκB y, con ello, su inmediata degradación por el proteasoma, liberando el NF-κB. Esta forma activa está constituida por las subunidades p65 y p50, las cuales traslocan al núcleo uniéndose a regiones específicas de los genes diana (Ahn *et al.*, 2007).

La inhibición del NF-κB en ratones obesos mediante el tratamiento con salicilato sódico revirtió la RI (Yuan *et al.*, 2001). El NF-κB es una proteína heterotrimérica

compuesta por diferentes combinaciones de miembros de la familia Rel de factores de transcripción, implicada en las respuestas inducidas por estrés, especialmente en la respuesta inflamatoria e inmune. Asimismo, la vía del NF-κB está implicada en el control de la proliferación y de la apoptosis. Sus más potentes activadores son los factores proinflamatorios TNF-α y la IL-1, y recientemente la IL-18, todos aumentados en la obesidad (Tilg y Moschen, 2008; Hotamisligil, 2006; Gil *et al.*, 2007b). Se ha demostrado cómo TNF-α puede inhibir la expresión de PPAR-γ a través del NF-κB o incrementando la degradación RNAm o de la proteína citoplasmática por activación de caspasas (Guilherme *et al.*, 2009). La depleción de PPAR-γ podría regular la expresión de enzimas implicadas en el metabolismo lipídico modificando así la síntesis de triglicéridos (Guilherme *et al.*, 2008).

De igual modo, el NF-κB también se activa a través de unos receptores transmembrana implicados en el reconocimiento de microorganismos llamados "toll-like receptors" (TLR) (ver más adelante).

### **Proteína de unión a elementos regulatorios de esteroides (SREBP-1)**

Las SREBP (por sus siglas en inglés: *sterol regulatory element binding protein*) son una familia de factores de transcripción formada por tres miembros SREBP-1a, 1c y 2. SREBP-2 regula genes involucrados en el metabolismo del colesterol, mientras que SREBP-1a y 1c regulan genes involucrados en la lipogénesis.

Las proteínas SREBP sintetizadas y ancladas al retículo endoplásmico tienen que

ser procesadas para poder actuar como factores de transcripción. En el procesamiento de SREBP intervienen al menos tres proteínas; una de ellas es la proteína activadora del corte de SREBP (*SREBP-cleavage activating protein*, SCAP) y las otras dos son las proteasas denominadas S1P (proteasa del sitio 1) y S2P (proteasa del sitio 2). Una vez que la SREBP ha sido sintetizada, es introducida en las membranas del retículo endoplásmico, donde se une con la proteína SCAP. La proteína SCAP actúa como escolta de SREBP y como sensor de esteroides. Cuando en las células comienza a descender el colesterol, la proteína SCAP escolta a SREBP desde el retículo endoplásmico hasta el aparato de Golgi, donde residen las dos proteasas. En el aparato de Golgi, la proteína S1P ancla a SREBP a la membrana, SREBP se separa de SCAP y, por la acción de dos procesos proteolíticos sucesivos, SREBP se divide en dos y se produce la activación transcripcional del dominio aminoterminal, denominado nSREBP (SREBP nuclear), que se libera y se trasloca al núcleo, donde activa la transcripción de los genes diana uniéndose al elemento de respuesta a esteroides (SRE) que se encuentra en las regiones promotoras o potenciadoras de varios genes o de sus secuencias relacionadas, incluyendo las secuencias SRE-like y las cajas-E (revisado en Sato, 2010) (figura 2).

El colesterol y los oxisteroides regulan esta vía de activación de SREBP mediante una inhibición *feedback*. Cuando aumenta el contenido en colesterol de las células, SCAP percibe el exceso de colesterol a través de sus dominios sensores, cambia su conformación y el complejo SCAP/SREBP no puede incorporarse al aparato de Gol-

gi, cesando la transcripción de los genes diana (figura 2). El mecanismo biofísico mediante el cual SCAP detecta los niveles de esteroides en el retículo endoplásmico todavía se desconoce (Sato, 2010).

La SREBP-1c es un factor de transcripción que desempeña un papel importante en el control de la síntesis de los ácidos grasos, formación de VLDL y en la gluconeogénesis. Como el hígado desempeña un papel importante en el metabolismo lipídico de todo el organismo, tal regulación afecta a toda la composición lipídica corporal y puede contribuir al inicio y a la progresión de varias enfermedades crónicas, como aterosclerosis, diabetes y obesidad.

La regulación de SREBP-1c tiene lugar a dos niveles, transcripcional y postraducciona. La regulación postraducciona discurre a través de la supresión del procesamiento de SREBP-1c mediada por esteroides, anteriormente comentada, lo que da lugar a la supresión del movimiento del complejo SCAP/SREBP desde el retículo endoplásmico hasta el Golgi, evitando la generación de nSREBP. La regulación transcripcional de SREBP-1c es más compleja. Hay tres factores que regulan selectivamente a SREBP-1c: los LXR activados del hígado (ver más adelante), el glucagón y la insulina, los cuales, al igual que los oxisteroides (agonistas de LXR), inducen la transcripción del gen SREBP-1 elevando SREBP-1c e induciendo la lipogénesis. De hecho, en el promotor del gen SREBP-1 se encuentran dos elementos de respuesta a LXR (LXRE) que pueden ser activados por sobreexpresión de LXR- $\alpha$  o LXR- $\beta$  y/o la adición de un agonista de LXR. La activación de los LXR se confirma si se observa el aumento de SREBP-1c y de los niveles de mRNA del ABC-A1 (*ATP-bin-*

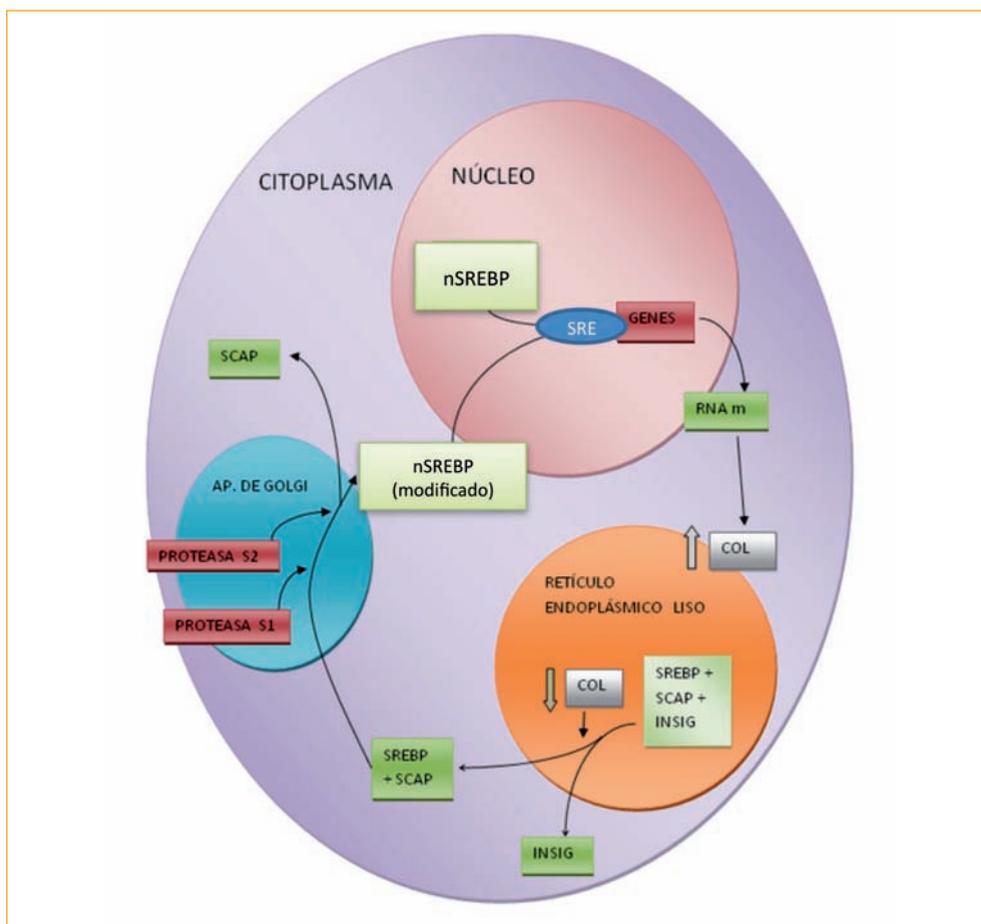


Figura 2. Regulación de esteroides por acción del SREBP (proteína de unión a elementos regulatorios de esteroides). SCAP: proteína activadora del corte de SREBP (SREBP-cleavage activating protein).

*ding cassette transporter* AI: transportadores de colesterol tipo "cassettes" de unión a ATP), ambos conocidos como genes diana de LXR.

LXR- $\alpha$  y LXR- $\beta$  forman heterodímeros con el RXR y son activados por una gran variedad de esteroides, incluyendo oxisteroides intermediarios que se forman durante la biosíntesis de colesterol. Parece que LXR aumenta la síntesis de ácidos grasos induciendo a SREBP-1c. La activación de la transcripción de SREBP-1c mediada por

LXR proporciona un mecanismo a las células para inducir la síntesis de oleato cuando los esteroides están presentes en exceso. El oleato es el ácido graso preferido para la síntesis de ésteres de colesterol, y es necesario tanto para el transporte como para la acumulación de colesterol.

El SREBP-1c contribuye también a la síntesis y a la regulación del metabolismo de la glucosa. Cuando se expresa en hepatocitos, nSREBP-1c induce la expresión de glucoquinasa, una enzima clave en la utiliza-

ción de la glucosa. Esto, además, suprime la actividad de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, una enzima clave en la gluconeogénesis.

Se han propuesto diferentes mecanismos por los cuales los AGPI regulan la lipogénesis a través de SREBP-1. El primero sugiere que los AGPI reducen la forma nuclear activa de SREBP-1 al disminuir la proteólisis (Takeuchi *et al.*, 2010). Segundo, los AGPI disminuyen la estabilidad del mensajero de SREBP-1 (Yahagi *et al.*, 1999), y tercero, suprimen la expresión del RNAm de SREBP-1 (Kim *et al.*, 1999). Por lo que dietas con alto contenido en AGPI favorecerán la disminución de SREBP-1 y como consecuencia disminuirán la lipogénesis.

### Receptor hepático X (LXR)

El receptor hepático X (LXR, *liver X receptor*, un miembro de la superfamilia de receptores nucleares) es un potente activador de la expresión de SREBP-1 y, por tanto, de diversos genes lipogénicos tanto en hígado como en tejido adiposo. Se ha comprobado que los AGPI, además del efecto inhibitorio sobre la acción del SREBP-1, pueden antagonizar de forma directa al LXR, que es un factor de transcripción necesario para la transcripción eficiente del gen SREBP-1, al competir con su ligando endógeno activador (los oxisteroles, intermediarios en la biosíntesis de colesterol) por un mismo sitio de unión (Ou *et al.*, 2001; Howell *et al.*, 2009).

### Factor hepático nuclear $4\alpha$ (HNF- $4\alpha$ )

El factor nuclear  $4\alpha$  de los hepatocitos (HNF- $4\alpha$ ) es un factor de transcripción

miembro de una familia de factores nucleares hepáticos que incluye seis isoformas diferentes. El HNF- $4\alpha$  es un receptor nuclear "huérfano", pues no se han identificado ligandos endógenos. Se une a motivos de repetición directa con un nucleótido separador (DR-1) como homodímero y es esencial para el mantenimiento de la expresión de genes hepáticos y la homeostasis lipídica. Este factor se expresa principalmente en hígado, riñón, intestino y páncreas, uniéndose a aproximadamente el 12% de los genes expresados en el hígado e islotes pancreáticos, lo que sugiere que su papel fisiológico principal es la expresión de genes específicos de tejido, más que la regulación de vías metabólicas.

El HNF- $4\alpha$ , en cultivos celulares, regula genes hepáticos como el de las apolipoproteínas (apo A-II, apo A-IV, apo C-II y apo C-III), enzimas que participan en el metabolismo de los hidratos de carbono [L-PK, glucosa-6-fosfatasa, fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK)], del hierro (transferrina) y enzimas responsables de la síntesis de ácidos biliares (CYP7A). Los heterodímeros de PPAR con RXR compiten con el factor HNF- $4\alpha$  por unirse a elementos DR-1 en los promotores de la apo C-III y de la transferrina. Al contrario de lo que ocurre con los ácidos grasos libres, el palmitoil-CoA se une al HNF- $4\alpha$ , mientras que no se une a PPAR ni a RXR. El palmitoil-CoA estimula la unión del HNF- $4\alpha$  al elemento DR-1 del gen de la apo C-III y el estearoil-CoA inhibe dicha unión, lo que coincide con los conocidos efectos dietéticos de los ácidos palmítico y esteárico sobre los perfiles de las apoproteínas plasmáticas. Por otra parte, los AGPI, como  $\alpha$ -linolénico, EPA y DHA, inhiben al HNF- $4\alpha$ .

### Receptores análogos de Toll (TLR)

Los receptores análogos de Toll (TLR) son receptores transmembrana con repeticiones de motivos ricos en leucina (LRR) y un dominio citoplasmático Toll/IL-1R (TIR). En el ser humano se han identificado 11 TLR, mientras que en el ratón se han podido identificar 13. Los TLR están involucrados en la detección de agentes patógenos invasores y en la inducción de la respuesta inmunitaria innata con el fin de activar los mecanismos de defensa, así como en el desarrollo de la tolerancia inmunitaria a los antígenos. Los TLR reconocen patrones moleculares conservados en los microorganismos invasores (*molecular patterns associated with pathogens*, PAMP), entre cuyas estructuras se encuentran lípidos, hidratos de carbono, proteínas y ácidos nucleicos. Cada TLR reconoce diferentes PAMP. Entre sus agonistas más representativos se encuentran lipopolisacáridos (LPS) para TLR-4, lipopéptidos bacterianos y peptidoglucanos para TLR-2, RNA para TLR-3, flagelina para TLR-5 y motivos ricos en CpG para TLR-9.

La activación de los TLR y la inflamación y respuesta inmunitaria consecuentes son moduladas de forma distinta por distintos tipos de lípidos in vivo, incluidos los ácidos grasos, lo que sugiere que el riesgo de desarrollar una enfermedad inflamatoria crónica y las defensas presentadas frente a la infección pueden ser modificadas por la grasa consumida en la dieta. Determinados tipos de agonistas de los TLR, como los lipopéptidos (agonistas de TLR-2), contienen ácidos grasos saturados como el ácido láurico, el palmítico o el mirístico. Una vez que los TLR han sido estimulados con agonistas, reclutan moléculas adaptadoras para activar las vías de señalización.

MyD88 es la molécula adaptadora más utilizada por los TLR. Ésta interacciona directamente con el dominio TIR (Toll/IL-1R) de los TLR. MyD88 recluta al receptor de IL-1 asociado a quinasa 4 (IRAK-4) e induce la fosforilación de IRAK-4. La fosforilación de IRAK-4 induce la fosforilación y la activación de IRAK-1. IRAK-1 se asocia al receptor del TNF, asociado a su vez al factor 6 (TRAF-6), el cual recluta a la proteína 1 de unión a TAK-1 (TAK-1 *binding protein-1*, TAB-1) y a TAB-2, lo que da lugar a la activación de la quinasa TAK-1 (quinasa 1 activada por el factor de crecimiento transformante  $\beta$ ). TAK-1 activa al complejo IKK- $\alpha/\beta/\gamma$  (IKK: quinasa de  $\kappa B$ ), dando lugar a la activación del factor de transcripción NF- $\kappa B$ . TAK-1 también activa las quinasas p38 y JNK (quinasa N-terminal de c-Jun).

Como resultado, se expresan los genes diana inflamatorios, incluyendo los de COX-2 y citoquinas. La expresión de genes inflamatorios como COX-2 o iNOS, inducida por ácidos grasos saturados, es bloqueada en mutantes dominantes negativos de TLR-4, TLR-2 o TLR-6. Los ácidos grasos saturados activan dímeros de TLR-2 y TLR-4, para los cuales los ligandos afines requieren ácidos grasos acilados en sus moléculas.

Trabajos recientes ponen de manifiesto el papel de los TLR en el desarrollo de la obesidad, la RI y la aterosclerosis. Los AGS derivados tanto de la dieta como de la lipólisis del tejido adiposo entran en la circulación y afectan a distintos tejidos a través de la activación de TLR-2 y 4 presentes en sus células, lo que induce la producción de citoquinas como TNF e IL-6, quimoquinas y moléculas de adhesión, lo que activa el reclutamiento de macrófagos en los

tejidos, incluido la subíntima arterial, el hígado y el tejido adiposo (Fressler *et al.*, 2009). Además, publicaciones científicas recientes demuestran la acción de los AGS en el hipotálamo, a través de la activación de TLR-4, provocando una respuesta inflamatoria que determina la resistencia a las señales anorexígenas mediadas por las hormonas como la leptina y la insulina, lo que lleva al desarrollo de la obesidad (Milanski *et al.*, 2009).

### **Estimulación de la quinasa activada por AMPc (AMPK) por la grasa de la dieta**

Gran parte de los efectos metabólicos de los ácidos grasos, en especial de los AGPI n-3, son mediados por la estimulación de la quinasa activada por AMPc (AMPK), una proteína heterotrimérica formada por una subunidad  $\alpha$ , otra  $\beta$  y otra  $\gamma$ , que funciona como sensor de la energía del organismo y es responsable del mantenimiento de su equilibrio, regulando la homeostasis de la glucosa y los lípidos en el tejido adiposo, el hígado y el músculo. AMPK responde a los cambios en el estado energético de la célula, activándose por fosforilación de la subunidad  $\alpha$  cuando los niveles de AMPc están altos, signo de que las reservas de energía de la célula están bajas. Entonces, AMPK restablece los niveles de energía inhibiendo vías metabólicas que consumen ATP y activando aquellas que producen ATP (Long *et al.*, 2006).

La activación de la AMPK induce una disminución en la expresión de las enzimas lipogénicas acetil-CoA-carboxilasa (ACC). Esta enzima es el primer paso para la síntesis de TG y FA, por tanto, al bloquear la

expresión de ACC, bloquea al mismo tiempo la formación de malonil-CoA y se activa a su vez la expresión de la enzima carnitin-palmitoil transferasa (CPT-1), especialmente en el tejido adiposo, provocando de esta manera una adecuada oxidación mitocondrial de FA (Aguilera *et al.*, 2006). La AMPK activa también la expresión intracelular del coactivador-1 $\alpha$  de PPAR- $\gamma$  (PGC-1 $\alpha$ ), incrementando de esta manera la actividad enzimática mitocondrial para la oxidación de FA y la biogénesis mitocondrial. De igual manera, la adiponectina y la leptina activan la AMPK. Cuando existe resistencia a la leptina descrita en la obesidad, la AMPK no ejerce su inhibición sobre ACC, con lo que se sobreexpresa la enzima malonil-CoA y se incrementa la síntesis de TG y FA, bloqueándose simultáneamente su oxidación al inhibir a la CPT-1 (figura 3). De forma contraria, la resistina tiene un efecto inverso mediante la inhibición de la AMPK.

Estudios realizados en ratones ob/ob alimentados con dietas enriquecidas en AGPI n-3, así como en otro modelo de ratones con SM desarrollado tras la ingesta de una dieta rica en grasa de maíz durante 5 semanas, dieta que se sustituyó por otra rica en AGPI n-3, han demostrado una activación del catabolismo lipídico junto a una supresión de la lipogénesis tanto en tejido adiposo, intestino delgado e hígado a través de la activación de la cascada del AMPK antes explicada (resultados revisados en Kopecky *et al.*, 2009). Recientemente se ha demostrado que la activación de la AMPK tras la administración de AGPI n-3 preserva la sensibilidad hepática a la insulina (Jelenik *et al.*, 2010).

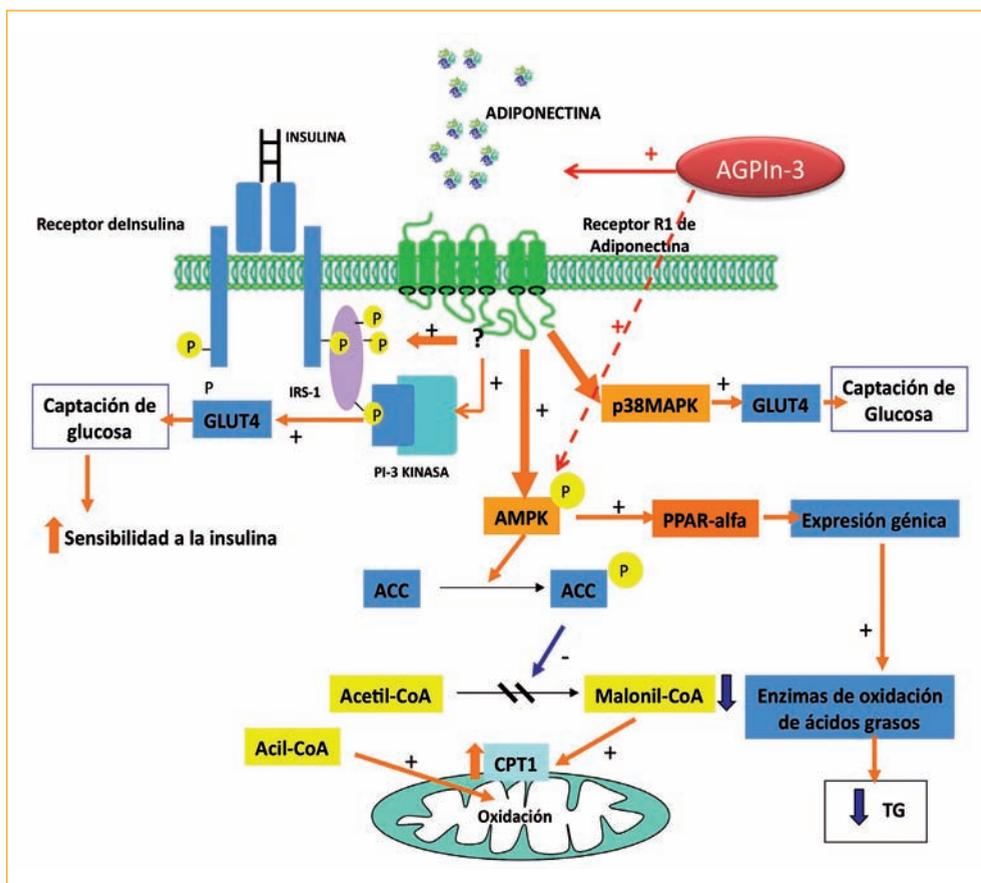


Figura 3. Modulación del metabolismo de los ácidos grasos y la sensibilidad a la insulina mediada por los ácidos grasos poliinsaturados de la serie 3 (AGPI n-3) a través de la activación de la AMPK y la producción de adiponectina. ACC: acetil CoA carboxilasa; AMPK: AMP-kinasa; CPT1: carnitina palmitoil transferasa-1; GLUT-4: transportador de la glucosa; IRS-1: sustrato del receptor de la insulina; p38MAPK: proteína kinasa activada por mitógeno p38; PPAR: receptor activado de proliferación de los peroxisomas; TG: triacilglicéridos.

## Conclusión

Además del clásico efecto de la grasa dietética sobre el metabolismo de las lipoproteínas y, por tanto, en el desarrollo de la placa de ateroma, la grasa de la dieta puede modular la producción de moléculas, como adipoquinas, citoquinas y factores de transcripción, que participan en las vías de señalización relacionadas con inflamación y la acción de la insulina, y con los

procesos de adipogénesis. Los AGPI n-3 de la dieta parecen jugar un papel destacado como protectores frente al SM, a través de varios mecanismos: a) activación de la AMPK que estimula el catabolismo lipídico e inhibe la lipogénesis en hígado y tejido adiposo, reduciendo la deposición lipídica y mejorando la señalización de la insulina; b) inducción de la producción de adiponectina; c) acción antiinflamatoria por la regulación de la expresión génica a

través de los factores de transcripción como los PPAR y el NF- $\kappa$ B, además de la producción de eicosanoides que reducen la producción de citoquinas. Por el contrario, la grasa saturada sérica procedente tanto de la dieta como de la lipólisis adipocitaria provoca la activación de TLR-2 y TLR-4, que, a través de la estimulación de las MAPK y factores de transcripción como el NF- $\kappa$ B induce la producción de citoquinas, quimoquinas y moléculas de adhesión que agravan la formación de la placa de ateroma, además del desarrollo de resistencia a la insulina en hígado y músculo. Los efectos de la grasa de la dieta y sus mecanismos de acción aquí expuestos constatan la importancia de la misma sobre el desarrollo y/o prevención de enfermedades crónicas, como la obesidad, y sus comorbilidades, como la resistencia a la insulina, la aterosclerosis y la enfermedad de hígado graso no alcohólico.

## Bibliografía recomendada

Abete I, Parra MD, Zulet MA, Martínez JA. Different dietary strategies for weight loss in obesity: role of energy and macronutrient content. *Nutr Res Rev.* 2006; 19:5-17.

Aguilera CM, Gil-Campos M, Cañete R, Gil A. Alteraciones del metabolismo lipídico en la obesidad. *Revista Española de Obesidad.* 2006, 4: 261-74

Aguilera CM, Gil-Campos M, Cañete R, Gil A. Alterations of plasma and tissue lipids associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin Sci.* 2008; 114: 183-93.

Ahn KS, Sethi G, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B: from clone to clinic. *Curr Mol Med.* 2007; 7:619-37.

Alberti K, Zimmet P, Consultation W. Definition diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes melli-

tus, provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Med.* 1998; 15:539-53.

Arya S, Isharwal S, Misra A, Pandey RM, Rastogi K, Vikram NK, et al. C-reactive protein and dietary nutrients in urban Asian Indian adolescents and young adults. *Nutrition.* 2006; 22:865-71.

Baer DJ, Judd JT, Clevidence BA, Tracy RP. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:969-73.

Benito P, Caballero J, Moreno J, Gutiérrez-Alcántara C, Muñoz C, Rojo G, et al. Effects of milk enriched with omega-3 fatty acid, oleic acid and folic acid in patients with metabolic syndrome. *Clin Nutr.* 2006; 25:581-7.

Bes-Rastrollo M, Sánchez-Villegas A, De la Fuente C, De Irala J, Martínez JA, Martínez-González MA. Olive oil consumption and weight change: the SUN prospective cohort study. *Lipids.* 2006; 41:249-56.

Brunzell JD, Hokanson JE. Low-density and high-density lipoprotein subspecies and risk for premature coronary artery disease. *Am J Med.* 1999; 107:165-185.

Buil-Cosiales P, Irimia P, Berrade N, Garcia-Arellano A, Riverol M, Murie-Fernández M, et al. Carotid intima-media thickness is inversely associated with olive oil consumption. *Atherosclerosis.* 2008; 196:742-8.

Cabrero A, Laguna JC, Vázquez M. Peroxisome proliferator-activated receptors and the control of inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2002; 1:243-8.

Cani PD, Joly E, Horsmans Y, Delzenne NM. Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. *Eur J Clin Nutr.* 2006; 60:567-72.

Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, Gibson GR, Delzenne NM. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia.* 2007; 50:2.374-83.

Cani PD, Neyrinck AM, Maton N, Delzenne NM. Oligofructose promotes satiety in rats

- fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like Peptide-1. *Obes Res.* 2005; 13:1.000-7.
- Cañete R, Gil-Campos M, Gil A. Development of insulin resistance and its relation to diet in the obese child. *Eur J Nutr.* 2007; 46:181-7.
- Clarke SD, Gasperikova D, Nelson C, Lapillonne A, Heird WC. Fatty acid regulation of gene expression: a genomic explanation for the benefits of the mediterranean diet. *Ann N Y Acad Sci.* 2002; 967:283-98.
- Delzenne NM, Cani PD, Daubioul C, Neyrinck AM. Impact of inulin and oligofructose on gastrointestinal peptides. *Br J Nutr.* 2005; 93 (Suppl. 1):S157-61.
- Delzenne NM, Cani PD, Neyrinck AM. Modulation of glucagon-like peptide1 and energy metabolism by inulin and oligofructose: experimental data. *J Nutr.* 2007; 137(11 suppl.):2.547S-51S.
- Devaraj S, Wang-Polagruto J, Polagruto J, Keen CL, Jialal I. High-fat, energy-dense, fast-food-style breakfast results in an increase in oxidative stress in metabolic syndrome. *Metabolism.* 2008; 57:867-70.
- Ferrucci L, Cherubini A, Bandinelli S, Bartali B, Corsi A, Lauretani F, et al. Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91:439-46.
- Fessler MB, Rudel LL, Brown JM. Toll-like receptor signaling links dietary fatty acids to the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol.* 2009; 20:379-85.
- Fievet C, Fruchart JC, Staels B: PPARalpha and PPARgamma dual agonists for the treatment of type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Curr Opin Pharmacol.* 2006; 6:606-14.
- Gil A, Aguilera CM, Gómez C. Nutrigenómica. En *Tratado de Nutrición*, Ed. A. Gil. Panamericana. 2010; 749-806.
- Gil A, Aguilera CM, Gil-Campos M, Cañete R. Altered signalling and gene expression associated with the immune system and the inflammatory response in obesity. *Br J Nutr.* 2007; 98(Suppl. 1):S121-6.
- Goldstein BJ. Insulin resistance as the core defect in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 2002; 90(Suppl. 1):3G-10G.
- Han SN, Leka LS, Lichtenstein AH, Ausman LM, Schaefer EJ, Meydani SN. Effect of hydrogenated and saturated, relative to polyunsaturated, fat on immune and inflammatory responses of adults with moderate hypercholesterolemia. *J Lipid Res.* 2002; 43:445-52.
- Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006; 444:860-7.
- Howell G 3rd, Deng X, Yellaturu C, Park EA, Wilcox HG, Raghov R, Elam MB. N-3 polyunsaturated fatty acids suppress insulin-induced SREBP-1c transcription via reduced trans-activating capacity of LXRalpha. *Biochim Biophys Acta.* 2009 Dec;1.791(12):1.190-6. Epub. 2009 Aug 27.
- Imhof A, Woodward M, Doering A, Helbecque N, Loewel H, Amouyel P, et al. Overall alcohol intake, beer, wine, and systemic markers of inflammation in western Europe: results from three MONICA samples (Augsburg, Glasgow, Lille). *Eur Heart J.* 2004; 25:2.092-100.
- Isganaitis E, Lustig RH. Fast food, central nervous system insulin resistance, and obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25:2.451-62.
- Jelenik T, Rossmeisl M, Kuda O, Jilkova ZM, Medrikova D, Kus V, et al. AMP-activated protein kinase  $\alpha 2$  subunit is required for the preservation of hepatic insulin sensitivity by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Diabetes.* 2010; 59:2.737-46.
- Jiménez-Gómez Y, Marín C, Pérez-Martínez P, Hartwich J, Malczewska-Malec M, Golabek I, Kiec-Wilk B, Cruz-Teno C, Rodríguez F, Gómez P, Gómez-Luna MJ, Defoort C, Gibney MJ, Pérez-Jiménez F, Roche HM, López-Miranda J. *J Nutr.* 2010; 140:1.595-601.
- Keller H, Dreyer C, Medin J, Mahfoudi A, Ozato K, Wahli W. Fatty acids and retinoids control lipid metabolism through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993; 90(6):2.160-4.

- Kim HJ, Takahashi M, Ezaki O. Fish oil feeding decreases mature sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1) by down-regulation of SREBP-1c mRNA in mouse liver. *J Biol Chem.* 1999; 274:25.892-8.
- Kopecky J, Rossmeisl M, Flachs P, Kuda O, Brauner P, Jilkova Z, et al. n-3 PUFA: bioavailability and modulation of adipose tissue function. *Proc Nutr Soc.* 2009; 68:361-9.
- Kliwer SA, Sundseth SS, Jones SA, Brown PJ, Wisely GB, Koble CS, Devchand P, Wahli W, Willson TM, Lenhard JM, Lehmann JM. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94:4.318-23.
- Kretschmer BD, Schelling P, Beier N, Liebscher C, Treutel S, Kruger N, Scholz HP, Haus A. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Sci.* 2005; 76:1.553-73.
- Krey G, Braissant O, L'Horsset F, Kalkhoven E, Perroud M, Parker MG, Wahli W. Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptors by coactivator-dependent receptor ligand assay. *Mol Endocrinol.* 1997; 11:779-91.
- Le KA, Tappy L. Metabolic effects of fructose. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2006; 9:469-75.
- Long YC, Zierath JR. AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. *J Clin Invest.* 2006; 116:1.776-83.
- López-García E, Hu FB. Nutrition and the endothelium. *Curr Diab Rep.* 2004; 4:253-9.
- López-García E, Schulze MB, Manson JE, Meigs JB, Albert CM, Rifai N, et al. Consumption of (n-3) fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial activation in women. *J Nutr.* 2004; 134:1.806-11.
- McAuley K, Mann J. Thematic review series: patient-oriented research. Nutritional determinants of insulin resistance. *J Lipid Res.* 2006; 47:1.668-76.
- Melanson EL, Astrup A, Donahoo WT. The relationship between dietary fat and fatty acid intake and body weight, diabetes, and the metabolic syndrome. *Ann Nutr Metab.* 2009; 55:229-43.
- Milanski M, Degasperi G, Coope A, Morari J, Denis R, Cintra DE, et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *J Neurosci.* 2009; 29:359-70.
- Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willett WC, et al. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:606-12.
- Ou J, Tu H, Shan B, Luk A, DeBose-Boyd RA, Bashmakov Y, et al. Unsaturated fatty acids inhibit transcription of the sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) gene by antagonizing ligand-dependent activation of the LXR. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98:6.027-32.
- Pereira MA, Kartashov AI, Ebbeling CB, Van Horn L, Slattery ML, Jacobs DR Jr, Ludwig DS. Fast-food habits, weight gain, and insulin resistance (the CARDIA study): 15-year prospective analysis. *Lancet.* 2005; 365:36-42.
- Pérez-Martínez P, García-Quintana JM, Yubero-Serrano EM, Tasset-Cuevas I, Tunez I, García-Ríos A, Delgado-Lista J, Marín C, Pérez-Jiménez F, Roche HM, López-Miranda J. Postprandial oxidative stress is modified by dietary fat: evidence from a human intervention study. *Clin Sci.* 2010; 119:251-61.
- Pérez-Matute P, Pérez-Echarri N, Martínez JA, Martí A, Moreno- Aliaga MJ. Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor-alpha. *Br J Nutr.* 2007; 97:389-98.
- Pirro M, Schillaci G, Savarese G, Gemelli F, Mannarino MR, Siepi D, et al. Attenuation of inflammation with short-term dietary intervention is associated with a reduction of arterial stiffness in subjects with hypercholesterolo-

- laemia. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2004; 11:497-502.
- Rallidis LS, Paschos G, Liakos GK, Velissaridou AH, Anastasiadis G, Zampelas A. Dietary alpha-linolenic acid decreases C-reactive protein, serum amyloid A and interleukin-6 in dyslipidaemic patients. *Atherosclerosis.* 2003; 167:237-42.
- Ramírez-Tortosa MC, Aguilera CM, Mesa MD. Nutrición y control de factores de riesgo cardiovascular. Tomo IV, 563-594. En *Tratado de Nutrición. Editor: Gil Hernández, Ángel. Acción Médica Madrid, España, 2005.*
- Reaven GM. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev.* 1995; 473-86.
- Reaven GM. The insulin resistance syndrome: definition and dietary approaches to treatment. *Annu. Rev. Nutr.* 2005; 25:391-406.
- Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature.* 1998 Jan 1; 391(6.662):79-82.
- Ros E, Nunez I, Pérez-Heras A, Serra M, Gilabert R, Casals E, et al. A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects: a randomized crossover trial. *Circulation.* 2004; 109:1.609-14.
- Saravanan N, Haseeb A, Ehtesham NZ, Ghafoorunniss A. Differential effects of dietary saturated and trans-fatty acids on expression of genes associated with insulin sensitivity in rat adipose tissue. *Eur J Endocrinol.* 2005; 153:159-65.
- Sato R. Sterol metabolism and SREBP activation. *Arch Biochem Biophys.* 2010; 501:177-81.
- Serrano-Martínez M, Palacios M, Martínez-Losa E, Lezaun R, Maravi C, Prado M, et al. A Mediterranean dietary style influences TNF-alpha and VCAM-1 coronary blood levels in unstable angina patients. *Eur J Nutr.* 2005; 44:348-54.
- Szanto A, Nagy L. The many faces of PPARgamma: anti-inflammatory by any means? *Immunobiology.* 2008; 213(9-10):789-803.
- Takeuchi Y, Yahagi N, Izumida Y, Nishi M, Kubota M, et al. Polyunsaturated fatty acids selectively suppress sterol regulatory element-binding protein-1 through proteolytic processing and autoloop regulatory circuit. *J Biol Chem.* 2010; 285:11.681-91.
- Thorsdottir I, Tomasson H, Gunnarsdottir I, Gisladottir E, Kiely M, Parra MD, et al. Randomized trial of weight-loss diets for young adults varying in fish and fish oil content. *Int J Obes (Lond).* 2007; 31:1.560-6.
- Tilg H, Moschen AR. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med.* 2008; 14:222-3.
- Wang C, Harris WS, Chung M, Lichtenstein AH, Balk EM, Kupelnick B, et al. n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not alpha-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84:5-17.
- Wang YX, Lee CH, Tiep S, Yu RT, Ham J, Kang H, Evans RM: Peroxisome- proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell.* 2003, 113(2):159-70.
- Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003; 112:1.796-808.
- Willson TM, Brown PJ, Sternbach DD, Henke BR. The PPARs: from orphan receptors to drug discovery. *J Med Chem.* 2000; 43:527-50.
- Wolever TMS. Dietary carbohydrates and insulin action in humans. *Br J Nutr.* 2000; 83(Suppl. 1):97-102.
- Wu H, Ghosh S, Perrard XD, Feng L, García GE, Perrard JL, Sweeney JF, Peterson LE, Chan L, Smith CW, Ballantyne CM. T-cell accumulation and regulated on activation, normal T cell expressed and secreted upregulation in adipose tissue in obesity. *Circulation.* 2007; 115:1.029-38.
- Yahagi N, Shimano H, Hasty AH, Amemiya-Kudo M, Okazaki H, Tamura Y, et al. Ishibashi S, Yamada N. A crucial role of sterol regula-

tory element-binding protein-1 in the regulation of lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem.* 1999; 274: 35.840-4.

Zhao G, Etherton TD, Martin KR, West SG, Gillies PJ, Kris- Etherton PM. Dietary alpha-linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic men and women. *J Nutr.* 2004; 134:2.991-7.

Zimmet P, Magliano D, Matsuzawa Y, Alberti G, Shaw J. The metabolic syndrome: a global public health problem and a new definition. *J Atheroscler Thromb.* 2005; 12:295-300.

Zulet MA, Berknepas ME, Martínez J. Comparison of dietary approaches to treat obesity based on the different carbohydrate/ fat content: Impact on weight loss and lipid profile. *Curr Nutr Food Sci.* 2005; 1:13-21.

# JORNADA

SOBRE

## INNOVACIÓN TERAPÉUTICA Y FACTORES DE PROTECCIÓN FRENTE A LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

10 DE NOVIEMBRE DE 2010



# Innovación terapéutica en la enfermedad de Alzheimer

**Jesús Benavides Yanguas.** Doctor en Farmacia. Consultante en Neurofarmacología. Profesor invitado de la Escuela Doctoral de la Universidad de París XI.

## Introducción

La enfermedad de Alzheimer es un proceso neurodegenerativo crónico, progresivo e irreversible que conduce a la pérdida de las capacidades cognitivas, a alteraciones del comportamiento, a la dependencia y, finalmente, a la muerte,

en 6 a 10 años después del diagnóstico (figura 1); ([http://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad\\_de\\_Alzheimer](http://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad_de_Alzheimer)). La prevalencia de esta enfermedad en los países desarrollados es superior al 1% y aumenta de forma exponencial con la edad, llegando a ser superior al 50% a los 80

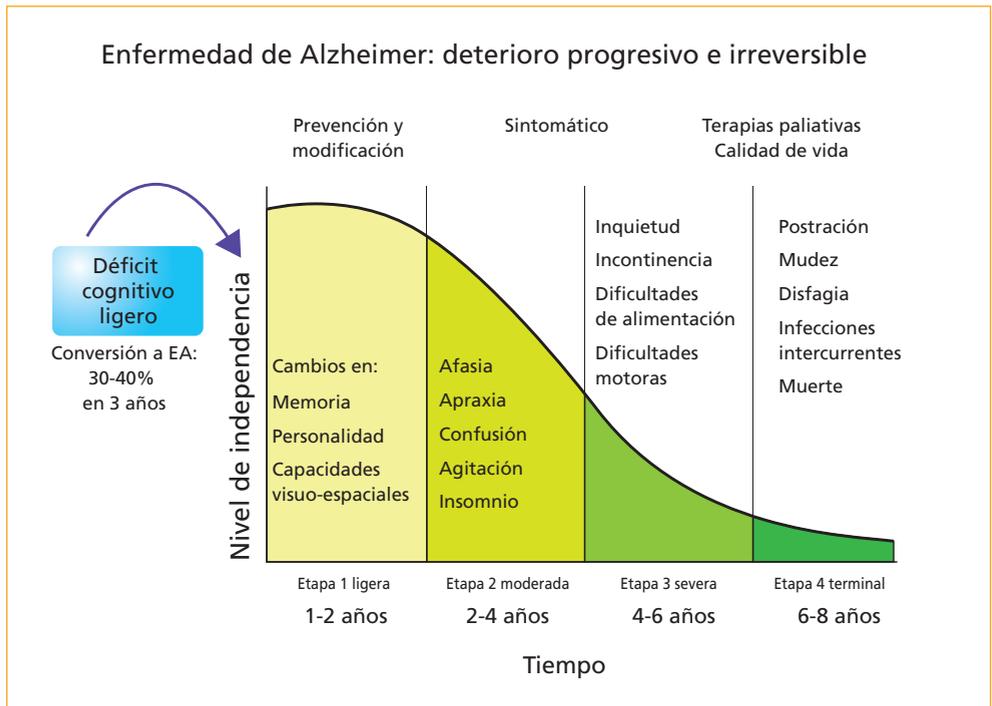


Figura 1. Progresión de la enfermedad de Alzheimer. Cada etapa de la enfermedad está caracterizada por la aparición de síntomas adicionales que conducen a una falta completa de autonomía. La duración media es de 6-8 años, aunque este parámetro es muy variable. El deterioro cognitivo leve (mild cognitive impairment) es considerado como una fase precursora de la enfermedad.

años ([http://www.alz.org/documents\\_custom/report\\_alzfactsfigures2010.pdf](http://www.alz.org/documents_custom/report_alzfactsfigures2010.pdf); [http://ec.europa.eu/health/ph\\_information/dissemination/diseases/alzheimer\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/ph_information/dissemination/diseases/alzheimer_en.htm); Alzheimer's Association, 2010; Wang y Ding, 2008) (figura 2). Esta prevalencia es aun más elevada si se incluye también la *mild cognitive impairment* (deterioro cognitivo leve), una alteración cognitiva que conduce frecuentemente a la enfermedad de Alzheimer en unos pocos años (Luck *et al.*, 2010). Por todas estas razones esta enfermedad constituye un problema sanitario, social y económico de la mayor importancia que afecta no sólo a los pacientes, sino también a su entorno familiar y social. Se calcula

que los gastos directos inducidos por la enfermedad son superiores a 10.000 euros/año, siendo estos gastos muchos más elevados en etapas avanzadas de la enfermedad (Gustavsson *et al.*, 2010).

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza, desde el punto de vista anatomopatológico, por la presencia de dos alteraciones: las placas seniles que tienen como componente principal el  $\beta$ -amiloide, un péptido insoluble de 40-42 aminoácidos, y los ovillos neurofibrilares, formados por agregados de la proteína tau (un componente del citoesqueleto neuronal) hiperfosforilada. Además, se observa una atrofia progresiva del cerebro que comienza

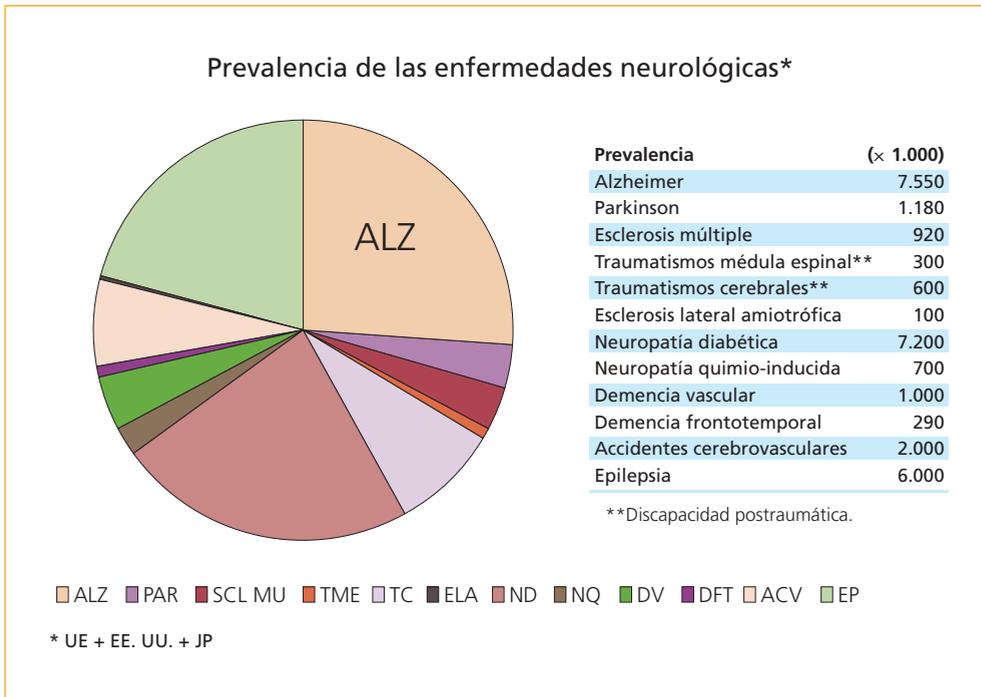


Figura 2. Prevalencia de las enfermedades neurológicas más frecuentes en los países desarrollados. Como se puede constatar, la enfermedad de Alzheimer tiene una prevalencia muy elevada. Esta frecuencia sería casi del doble si se tienen en cuenta las formas precursoras (mild cognitive impairment).

en la región del hipocampo, afecta posteriormente al córtex parietal y finalmente a las regiones corticales frontales (Scahill et al., 2002). Este modelo de atrofia progresiva explica las deficiencias cognitivas y las alteraciones del comportamiento características de la enfermedad (figura 3).

La enfermedad de Alzheimer ha sido objeto de una intensa investigación que ha permitido determinar el origen del  $\beta$ -amiloide (Kim y Tsai, 2009). Este péptido se forma a partir de la proteína APP por la acción sucesiva de las enzimas  $\beta$ -secretasa y  $\gamma$ -secretasa (<http://openwetware.org/wiki/BIO254:Amyloid>; Marks y Berg, 2007). La  $\gamma$ -secretasa es un complejo multiproteico en el que está integrada la presenilina (de tipo 1 ó 2) que es la responsable de la actividad proteolítica. Tanto la  $\beta$  como la  $\gamma$ -secretasa contienen aspartatos en su sitio activo (Chow et al., 2010).

Los estudios genéticos comparativos realizados en poblaciones extensas de enfermos y de individuos sanos han demostrado que la aparición precoz de la enfermedad está asociada a varias mutaciones de la presenilina o del APP (Bertram y Tanzi, 2008, 2009; Brouwers et al., 2008). En general, estas mutaciones conducen a una acumulación preferencial de la forma de 42 aminoácidos del  $\beta$ -amiloide, que es considerada como altamente tóxica, lo que explicaría que fueran causantes de formas precoces de la enfermedad.

Sin embargo, las formas genéticas de la enfermedad son sumamente minoritarias, siendo la mayor parte esporádicas. Los estudios de asociación genética han identificado también una serie de factores de riesgo que aumentan la probabilidad de sufrir la enfermedad. El más importante de ellos son los polimorfismos de la proteína ApoE, implicada en el transporte de lípidos, habiéndose determinado que los portadores de forma ApoE4 tienen mucho más riesgo de desarrollar la enfermedad que los que tienen la forma 3, y que la forma 2 es la que está asociada a un riesgo inferior (Ly y Grupe, 2007). El hecho de que la ApoE y varios otros factores de riesgo jueguen un papel en el metabolismo del colesterol hicieron pensar que los niveles elevados de colesterol podrían estar implica-

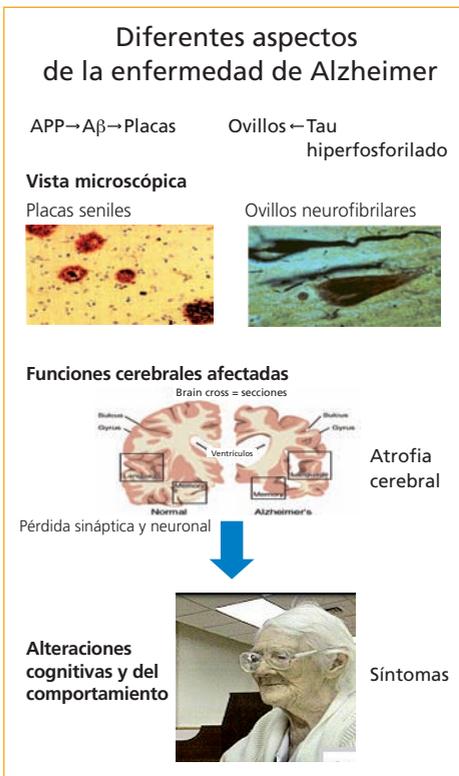


Figura 3. Diferentes aspectos de la enfermedad de Alzheimer. La formación de placas seniles y ovillos neurofibrilares conduce o es acompañada por la atrofia cerebral. Como consecuencia de estas alteraciones aparecen los déficits cognitivos y alteraciones comportamentales características de la enfermedad.

dos en la génesis de esta enfermedad (Wollmer, 2010; Fonseca *et al.*, 2009). Esta hipótesis fue propuesta inicialmente por estudios epidemiológicos que demostraron una asociación entre el riesgo de contraer la enfermedad de Alzheimer y una historia clínica de niveles plasmáticos de colesterol elevados (Kivipelto *et al.*, 2001), así como por un estudio de Wolozin *et al.* (2000), que demostró que en los pacientes tratados por estatinas disminuía la prevalencia de la enfermedad. Sin embargo, varios estudios prospectivos recientes no han podido confirmar el efecto de las estatinas (McGuinness *et al.*, 2010, 2009; McGuinness y Passmore, 2009). Además, queda por determinar si esta asociación es directa o está mediada por un efecto cardiovascular (De Toledo Ferraz Alves *et al.*, 2010; Dickstein *et al.*, 2010; Kuller, 2007).

Otro mecanismo implicado en la génesis y progresión de la enfermedad es la hiperfosforilación y agregación de la proteína tau (Hernández *et al.*, 2009; Hernández y Ávila, 2008). Esta proteína es un componente de los microtúbulos que forman el citoesqueleto neuronal, donde contribuye a su estabilización. Se han identificado varias enzimas (quinasas) potencialmente implicadas en esta fosforilación anormal, así como varias fosfatasa que podrían también ser blanco de la acción farmacológica. Se piensa que en la formación de los ovillos neurofibrilares podría estar implicado el desequilibrio entre las actividades quinasa y fosfatasa (Gong *et al.*, 2010). El escaso número de proyectos que actualmente se desarrollan en este campo podría atribuirse a la dificultad de encontrar inhibidores eficaces

de los blancos moleculares relacionados con tau y la existencia de fenómenos tóxicos mediados por la inhibición de dichos blancos.

Un aspecto que no está todavía claro es la relación entre la formación de placas amiloides y la de ovillos neurofibrilares, aunque el origen de las alteraciones al nivel de la proteína tau podría deberse a la desregulación del metabolismo de la proteína APP.

La atrofia cerebral en la enfermedad de Alzheimer es un proceso progresivo irreversible, con una evolución regional muy precisa. Aunque se piensa que las alteraciones al nivel de las proteínas APP y tau puedan estar implicadas en este proceso degenerativo, es probable que otros mecanismos, aún desconocidos, también jueguen un papel. En efecto, los modelos transgénicos murinos de la enfermedad de Alzheimer que desarrollan placas seniles y/u ovillos neurofibrilares no presentan una pérdida neuronal masiva como la que se observa en los humanos (Ashe y Kahs, 2010; Crews *et al.*, 2010).

## Dianas terapéuticas

Basado en el conocimiento de los mecanismos patológicos de la enfermedad de Alzheimer, se han identificado un gran número de dianas terapéuticas potenciales con un racional más o menos evidente (Grill y Cummings, 2010; figura 4). Estas dianas se pueden clasificar en varios grupos:

- Formación, toxicidad y agregación del  $\beta$ -amiloide.
- Fosforilación y agregación de tau.
- Neurodegeneración.

- Factores de riesgo (colesterol, diabetes, hipertensión...).
- Alteraciones sintomáticas (cognición, comportamiento).

Para reducir la acumulación del  $\beta$ -amiloide, podemos actuar al nivel de su formación y de su degradación (figura 4). Se puede reducir la formación del  $\beta$ -amiloide mediante inhibición de la  $\gamma$  o la  $\beta$ -secretasa. La  $\gamma$ -secretasa ha sido el blanco molecular más utilizado y se han identificado un gran número de inhibidores de este complejo multienzimático. Sin embargo, este blanco presenta problemas, ya que la  $\gamma$ -secretasa tiene múltiples sustratos y su inhibición puede conducir a efectos tóxicos inaceptables. Los estudios clínicos con las moléculas más avanzadas han tenido

como objetivo determinar si se pueden disociar sus efectos terapéuticos y tóxicos. Una estrategia que está siendo evaluada es la identificación de inhibidores de la formación de  $\beta$ -amiloide (en particular, la forma más tóxica, compuesta de 42 aminoácidos) que no afecten otros sustratos de la  $\gamma$ -secretasa, como la proteína de membrana Notch (Williams, 2009). Aunque la  $\beta$ -secretasa es, desde el punto de vista biológico, un buen candidato a ser blanco molecular y que presenta potencialmente menos problemas de selectividad de sustrato que la  $\gamma$ -secretasa, la identificación de inhibidores activos por vía oral en humanos no ha sido, por razones de química medicinal, muy fructífera.

Otras estrategias posibles son incrementar la degradación del  $\beta$ -amiloide

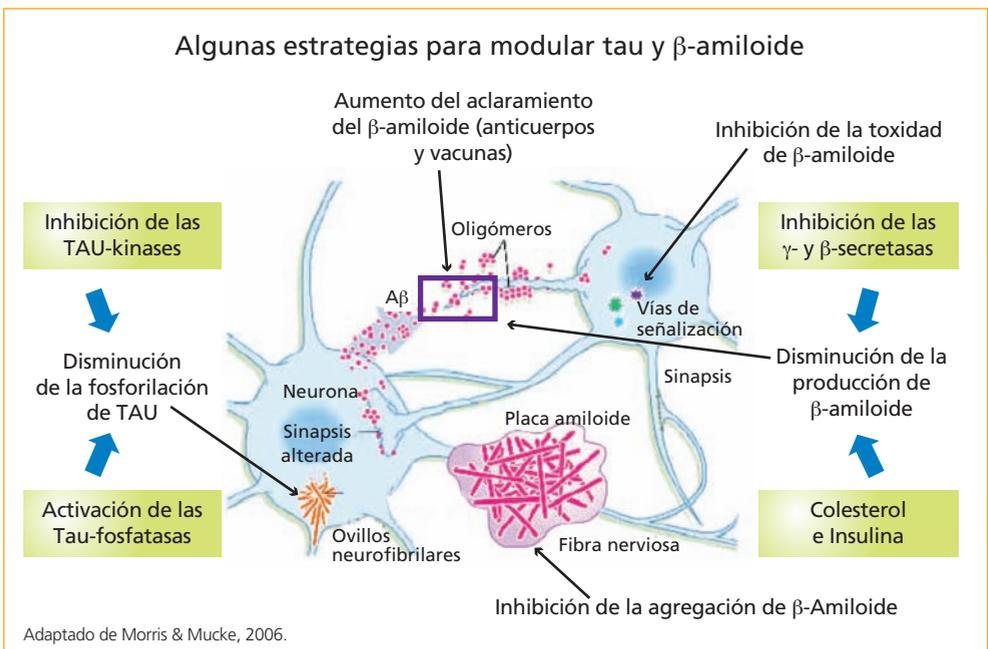


Figura 4. Esquema recapitulativo de los diferentes tipos de blancos moleculares posibles para prevenir la acumulación de  $\beta$ -amiloide o tau hiperfosforilado. Todos estos blancos han sido objeto de programas de descubrimiento de medicamentos. Un cierto número de estos programas se han evaluado en pacientes.

mediante la activación de las enzimas implicadas en este proceso como la IDE (*insulin degrading enzyme*) y neprilisina (Nalivaeva *et al.*, 2008; Miners *et al.*, 2008). También se ha considerado inhibir la agregación o fomentar la desagregación. Esta estrategia puede ser problemática ya que no está muy claro cuáles son las formas del  $\beta$ -amiloide responsables de su toxicidad (monómeros, oligómeros, fibrillas...).

Dos tecnologías que han suscitado muchas expectativas son la inmunoterapia activa (vacunas) y pasiva (anticuerpos anti  $\beta$ -amiloide). Ello parece sorprendente si se tiene en cuenta que los anticuerpos, debido a la barrera hematoencefálica, penetran de forma muy limitada en el cerebro, si bien se ha postulado una serie de hipótesis como el efecto sumidero [*sink effect*, es decir, el anticuerpo circulante aumenta el aclaramiento (salida) del  $\beta$ -amiloide del cerebro] o la activación de las células microgliales para explicar la eficacia de estos anticuerpos en modelos experimentales transgénicos (Wisniewski y Boutajangout, 2010 a y b). Se han identificado anticuerpos que reconocen específicamente diferentes conformaciones del  $\beta$ -amiloide, lo que podría mejorar de forma significativa la relación eficacia-riesgo de efectos secundarios, como las microhemorragias cerebrales, características de los primeros anticuerpos evaluados en animales y en pacientes (Citron, 2010; Grill y Cumming, 2010; Röhn y Bachman, 2010; Fu *et al.*, 2010; Cribbs, 2010). Aunque el  $\beta$ -amiloide es el blanco principal de estas estrategias inmunitarias, se están evaluando actualmente anticuerpos anti-tau con el fin de impedir la formación de los ovillos neurofibrilares.

Sin embargo, los proyectos de inmunoterapia anti-tau están aún en fase experimental (Fu *et al.*, 2010).

También se han abordado estrategias indirectas, como la disminución de los niveles de colesterol circulantes mediante la administración de estatinas (inhibidores de la HMG-CoA reductasa, etapa limitante de la síntesis del colesterol), si bien los resultados de los estudios clínicos realizados hasta ahora no son concluyentes (<http://www.ahaf.org/alzheimers/treatment/potential/#statins>; Kandiah *et al.*, 2009; McGuinness *et al.*, 2009 y 2010; McGuinness y Passmore, 2010). Así, un gran estudio prospectivo organizado por Pfizer para determinar el interés de la artovastatina no ha permitido demostrar un efecto terapéutico de esta estatina (Feldman, 2010). Sin embargo, hay que considerar que la homeostasis cerebral del colesterol es independiente de los niveles periféricos, lo que sugiere que se necesita identificar blancos moleculares que estén implicados en el control de la formación y aclaramiento cerebral de este lípido. A este respecto, los estudios de asociación genética han generado algunas pistas, como la familia de transportadores ABC (Wollmer, 2010; Vace y Hayashi, 2010; Russell *et al.*, 2009).

También se están evaluando en modelos experimentales estrategias que podrían reducir o revertir la degeneración neuronal mediante el uso de factores tróficos de alto o bajo peso molecular. Aunque estas moléculas han dado resultados favorables en algunos modelos celulares o animales, se considera que están todavía en una etapa muy precoz y que se necesitará mucho tiempo antes de que se conviertan

en una realidad terapéutica. Se ha considerado también la utilización de células madre para reemplazar las neuronas que degeneran en el curso de la enfermedad. Sin embargo, el proceso degenerativo de la enfermedad de Alzheimer afecta a una gran parte del cerebro, lo que dificultaría enormemente la utilización de una terapia celular.

Finalmente, podemos considerar las terapias sintomáticas, es decir, aquellas que tienen como objetivo paliar las alteraciones cognitivas o del comportamiento sin afectar a la progresión de la enfermedad. Los tratamientos disponibles actualmente son varios agentes procognitivos, como los inhibidores de la acetilcolina esterasa y un modulador de los receptores del glutamato de tipo NMDA, y agentes psicótropos con un mecanismo dopaminérgico para tratar las alteraciones del comportamiento. Hay, además, un gran número de moléculas en desarrollo clínico y preclínico que actúan sobre diferentes sistemas de neurotransmisión tales como el serotoninérgico, el histaminérgico, el colinérgico y el neuropeptidérgico. Esta variedad de dianas terapéuticas se explica por el hecho de que la enfermedad de Alzheimer afecta a un gran número de circuitos neuronales y que la activación de uno solo de estos circuitos puede tener efectos favorables, al menos en modelos experimentales.

### **Necesidades médicas no satisfechas**

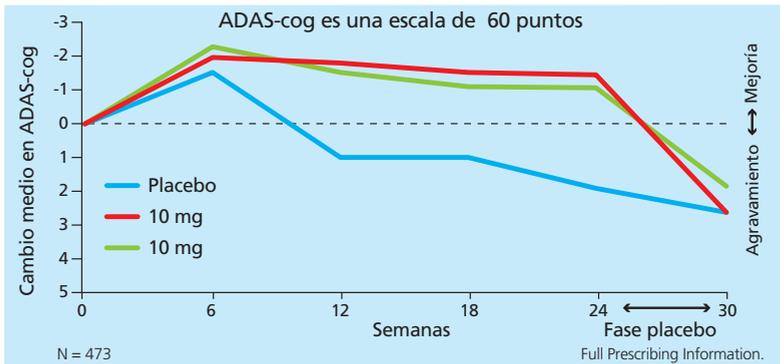
Como hemos señalado anteriormente, los únicos tratamientos disponibles en la actualidad, además de tener una eficacia muy limitada o presentar efectos secundarios importantes, son únicamente sintomáticos (figura 5A). Así, los agentes procognitivos disponibles no son eficaces en todos los pacientes, y en aquellos en los que muestran actividad, sólo tienen un efecto limitado. Por otro lado, los agentes psicótropos, utilizados en etapas avanzadas de la enfermedad para calmar la agitación y la ansiedad, no fueron inicialmente seleccionados con el objetivo de tratar personas de edad avanzada, lo que podría explicar algunos de sus efectos indeseables.

Existen un consenso claro en la gradación de las necesidades médicas no satisfechas para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (figura 5B), siendo evidente la prioridad de desarrollar fármacos que prevengan o reviertan la evolución de la enfermedad. No obstante, este objetivo es muy ambicioso y es difícil de predecir cuándo estarán disponibles para el paciente estos fármacos. De hecho, ya sería un gran avance terapéutico el disponer de tratamientos que retrasasen la progresión de la enfermedad. Por otro lado, la eficacia limitada de los tratamientos sintomáticos disponibles abre grandes oportunidades a la búsqueda de agentes procognitivos más eficaces, ya que se ha constatado que el efecto de los tratamientos disponibles en una escala de evaluación clínica de 60 puntos (Adas-Cog) no es nunca superior a 4 puntos de mejora comparado con el grupo placebo. Por ello, es evidente que un efecto significativamente mayor puede ser de gran interés médico. Hay otra serie de necesidades que se refieren a la calidad de vida de los pacientes y de sus cuidadores, como agentes hipnóticos y antipsicóticos con menos efectos secundarios.

**A: Tratamientos existentes de la enfermedad de Alzheimer**

- Agentes procognitivos con una eficacia limitada.
  - Tres inhibidores de la acetilcolina esterasa.
  - Un antagonista débil de los receptores NMDA.
- Agentes antipsicóticos para tratar las alteraciones del comportamiento.
- Ningún tratamiento *disease modifier* disponible.

**Ensayo clínico representativo de un inhibidor de la acetilcolina esterasa.**



**B: ¿Qué es lo que buscamos?**

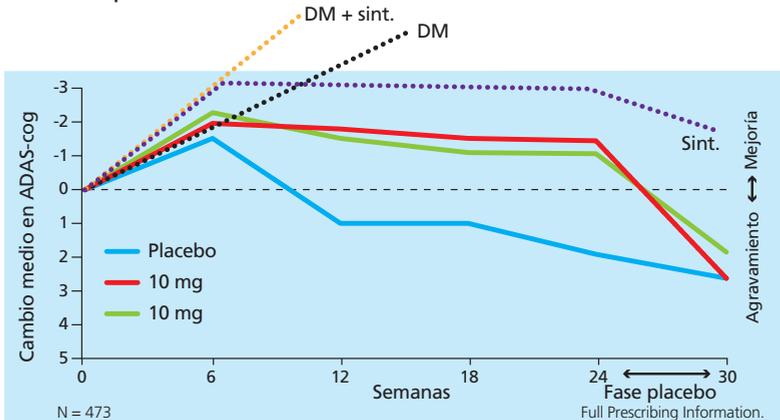


Figura 5. A: Tratamientos existentes de la enfermedad de Alzheimer con un ejemplo típico de los resultados obtenidos en un ensayo clínico de un inhibidor de la acetilcolina esterasa. B: Efectos hipotéticos, comparados con un tratamiento disponible, de un agente sintomático más potente, de un tratamiento *disease modifier* y de la combinación de ambos.

Otro aspecto que también se considera fundamental es la disponibilidad de un diagnóstico precoz fiable. En efecto, como mencionamos anteriormente, la enfermedad de Alzheimer se caracteriza

por una etapa presintomática muy larga, hasta de 20 años antes de que los síntomas aparezcan, y cuando estos son evidentes es probable que un tratamiento que modifique el curso de la enfermedad,

*disease modifier* (efecto sobre la progresión de la enfermedad, por contraposición a un efecto puramente sintomático), sólo pueda tener una eficacia limitada.

### Proyectos en desarrollo clínico

La gran relevancia médica, social y económica de la enfermedad de Alzheimer ha incitado a un gran número de organizaciones (compañías farmacéuticas, Biotechs, universidades y hospitales; <http://www.alzforum.org/drg/drc/>; Rafii, 2010) a evaluar en estudios experimentales y clínicos un gran número de tratamientos diferentes. Estos tratamientos tienen como diana terapéutica los diferentes mecanismos implicados en el origen y evolución de la enfermedad mencionados anteriormente, aunque existen también proyectos con un enfoque científico menos claro (Citron, 2010). Como se puede constatar en la

figura 6, un gran número de proyectos se encuentran en fases precoces de desarrollo clínico y un número mucho más limitado en fases más avanzadas, lo que se explica por una serie de factores que hacen que estos proyectos tengan que ser interrumpidos (Rafii, 2010).

Es interesante señalar que recientemente hay un gran número de moléculas biológicas en desarrollo, como son los anticuerpos y las vacunas (Lemere y Masliah, 2010). El proyecto más avanzado es el bapineuzumab, un anticuerpo monoclonal actualmente en fase III después de haber mostrado una actividad posible en las escalas neurológicas y en los biomarcadores en estudios clínicos previos (<http://www.alzforum.org/drg/drc/detail.asp?id=101>).

Existen igualmente varios proyectos que tienen como objetivo disminuir la pro-

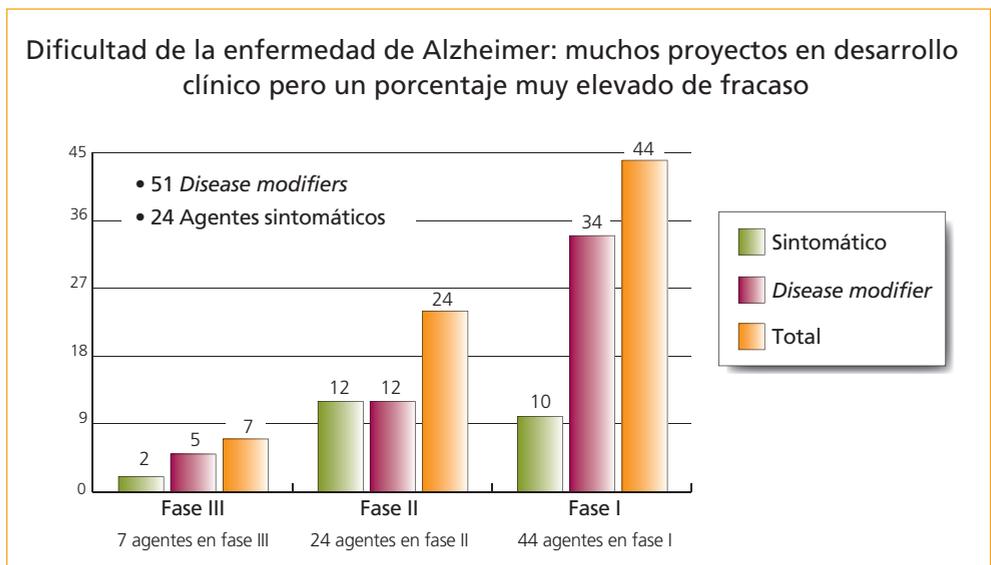


Figura 6. Un gran número de proyectos están actualmente en evaluación clínica como tratamientos de la enfermedad de Alzheimer. Se constata una mayor frecuencia de proyectos *disease modifiers*. El hecho de que la mayor parte se encuentre en fases precoces se explica por el gran número de fracasos durante estas etapas.

ducción de  $\beta$ -amiloide a través de la inhibición de la  $\gamma$ -secretasa. Aunque la base científica de este blanco está bien establecida, se sabe también que la  $\gamma$ -secretasa está implicada en una gran serie de procesos biológicos cuya inhibición puede conducir al cáncer. Por tanto, uno de los problemas más importantes de los inhibidores de la  $\gamma$ -secretasa es el margen limitado o nulo entre los efectos terapéuticos y los nocivos. Así, el desarrollo del segamacestat de Ely Lilly ha tenido que ser interrumpido debido a un aumento de la frecuencia de los cánceres de piel. Además, de forma sorprendente, este compuesto tuvo efectos negativos sobre la función cognitiva de los pacientes, lo que está en contradicción con la hipótesis que considera al  $\beta$ -amiloide causante de la enfermedad de Alzheimer. (<http://www.alzforum.org/drg/drc/detail.asp?id=108>; <http://www.alzforum.org/new/detail.asp?id=2536#{9FCC12DC-F063-49C3-A039-A6F12F5EB029}>).

Otro compuesto digno de mención es el AZD-103, un isómero del inositol que en modelos experimentales inhibe la agregación de  $\beta$ -amiloide. La fase III acaba de ser iniciada sobre la base de un estudio de la fase II que demostró un efecto significativo sobre los niveles de  $\beta$ -amiloide en el líquido cefalorraquídeo de pacientes tratados (<http://www.alzforum.org/new/detail.asp?id=2530>; Townsend, 2006).

A pesar del entusiasmo que despertó la proteína tau como blanco molecular, en la actualidad sólo está en desarrollo clínico un compuesto que actúa sobre ella (<http://www.noscira.com/prensa.cfm?mS=237&mSS=265&idArticulo=622>), el tideglusib, (aunque sólo para tratar la parálisis supranuclear progresiva). Se trata de una molé-

cula que, entre otras actividades, inhibe moderadamente la GSK3 $\beta$ , enzima implicada en la fosforilación patológica de tau.

Por lo que concierne a los tratamientos sintomáticos, hay actualmente en evaluación clínica una serie de compuestos que actúan a nivel de diferentes sistemas de neurotransmisión (colinérgica, histaminérgica, serotoninérgica). Dado que los modelos experimentales donde estos compuestos han sido caracterizados tienen un valor predictivo limitado, es imposible saber si podrán aportar una ventaja terapéutica clara con respecto a los inhibidores de la acetilcolina esterasa o al menos mostrar alguna eficacia adicional en asociación con esos inhibidores.

Un caso interesante es el dimebón, una molécula utilizada desde hace muchos años en Rusia como antihistamínico, que fue reposicionada sobre la base de un ensayo clínico con un número limitado de pacientes en los que tuvo una actividad procognitiva. Por desgracia, los estudios multicéntricos fueron completamente negativos, con el problema adicional de que estos resultados son difíciles de interpretar y no ayudan a nuestra comprensión de la enfermedad de Alzheimer (<http://www.alzforum.org/drg/drc/detail.asp?id=111>; <http://www.news-medical.net/news/20100303/Pfizer-Medivation-announce-results-of-two-dimebon-Phase-3-trials-in-AD-patients.aspx>).

Muy recientemente se han ensayado estrategias neuroquirúrgicas para implantar electrodos en zonas del cerebro implicadas en la función cognitiva (Laxton *et al.*, 2010). Aunque esta tecnología terapéutica ha dado resultados muy favorables para tratar las alteraciones motoras

características de la enfermedad de Parkinson, es todavía pronto para concluir si este tipo de tratamiento será eficaz en la enfermedad de Alzheimer.

En la página web <http://www.ahaf.org/alzheimers/treatment/potential/> se puede encontrar un resumen de otros tratamientos que están siendo o han sido evaluados sin que se haya llegado a una conclusión definitiva (*ginko biloba*, estrógenos, ácidos grasos  $\omega$ -3, antioxidantes, antiinflamatorios...).

### Investigación traslacional

En un artículo reciente (2009), la neuróloga americana Anne Young mencionaba el hecho de que, a pesar de muchos años de investigación intensa y de alta calidad que han permitido comprender los procesos patológicos implicados en las enfermeda-

des neurodegenerativas, estamos todavía lejos de poder aportar a los pacientes tratamientos eficaces. Esta situación es especialmente evidente en la enfermedad de Alzheimer, donde una investigación experimental y clínica intensa no ha conseguido desarrollar tratamientos capaces de frenar la progresión de la enfermedad. El contraste es enorme entre la notable eficacia que muestran muchos compuestos en los modelos experimentales y la ausencia de resultados favorables en los estudios clínicos.

Este hecho, que no es específico de la enfermedad de Alzheimer o de las enfermedades neurológicas, fue analizado hace varios años por la FDA (Food and Drug Administration. Organismo de los EE.UU. encargado de evaluar los medicamentos) (figura 7) (Finkelstein *et al.*, 2002). Durante una reunión en la que se constató la

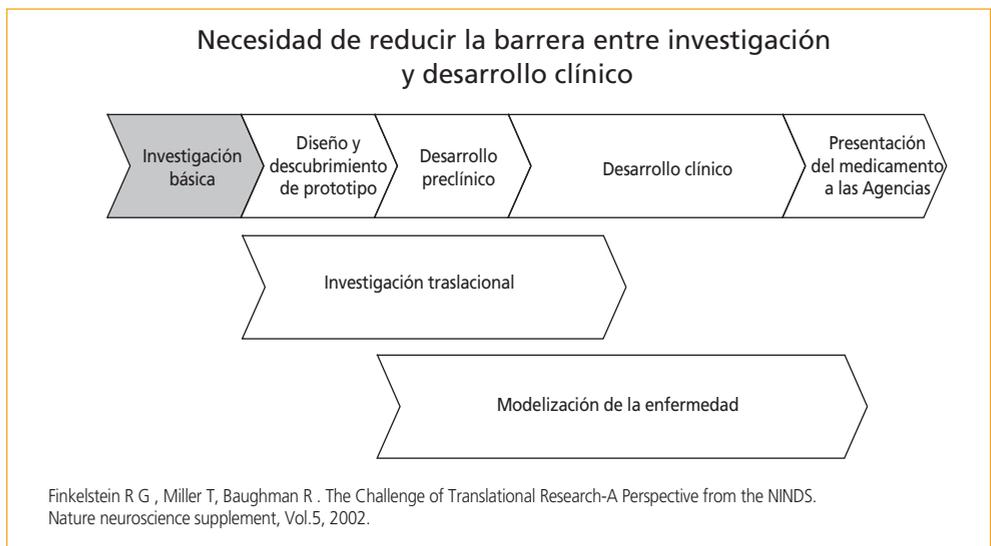


Figura 7. Iniciativas propuestas por la FDA con el fin de reducir el fracaso durante el desarrollo clínico. Estas iniciativas han dado lugar a consorcios que reúnen las compañías farmacéuticas y las instituciones académicas, tales como ADNI "Alzheimer's disease Neuroimaging initiative" y "Critical Path". Existen, además, un gran número de proyectos dedicados a la identificación de biomarcadores.

desconexión entre la investigación en animales y en clínica, se concluyó que había que establecer puentes entre estos dos procesos con el fin de promover la innovación terapéutica. La propuesta fue, por un lado, mejorar el conocimiento que tenemos de la enfermedad creando bases de datos en las que los estudios clínicos (positivos o negativos) estén incluidos, como es el caso de la CAMD Critical path (<http://www.c-path.org/CAMDcodr.cfm>), y, por otro lado, establecer pasarelas más fiables y eficaces entre los modelos experimentales y la investigación clínica (investigación traslacional).

Podemos definir la investigación traslacional como un puente y, como tal, tiene que estar apoyado en las dos orillas. Este puente tiene que permitir transferir de forma eficaz la información entre los dos lados: *bench to bed and bed to bench* (*bench*: mesa de laboratorio; *bed*: lecho del paciente) (figura 8), con el fin de aumentar la probabilidad de éxito de los ensayos clínicos.

Un aspecto importante de esta estrategia es desarrollar modelos experimentales más próximos a la patología humana. En el caso de la enfermedad de Alzheimer existen modelos de ratones transgénicos que reproducen la acumulación del  $\beta$ -amiloide y la formación de placas seniles o la agregación de tau y la formación de ovillos neurofibrilares (Ashe y Kahs, 2010; Crews *et al.*, 2010). Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, no existen modelos que reproduzcan la pérdida neuronal masiva observada en los pacientes, lo que constituye sin duda una limitación de los modelos experimentales. Es igualmente importante la forma en que es

utilizado el modelo. El protocolo experimental y los criterios de evaluación deben ser lo más próximos posible a los que serán utilizados más tarde en los estudios clínicos. El no seguimiento de estas normas hace que no se puedan identificar las razones por las que compuestos activos en modelos experimentales no se muestran eficaces en los estudios clínicos.

Un segundo aspecto de la investigación traslacional es la identificación de biomarcadores. Un biomarcador es todo parámetro que se pueda medir en el paciente, respetando los criterios éticos, y que nos permita concluir que el agente en evaluación está actuando en el paciente sobre el blanco terapéutico o sobre el mecanismo patológico predicho por los estudios experimentales. No obstante, es importante resaltar que un efecto sobre un biomarcador no es una prueba de eficacia terapéutica.

En el caso de la enfermedad de Alzheimer se pueden utilizar dos tipos de tecnologías (Miller, 2009; Perrin, 2009):

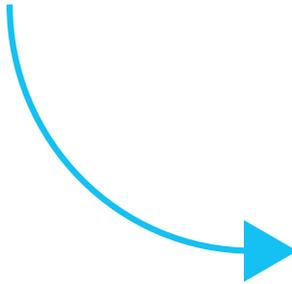
- Parámetros bioquímicos, como niveles de tau y fosfo-tau en el líquido cefalorraquídeo.
- Imágenes cerebrales utilizando el PET y la RMI para determinar la carga amiloide, el metabolismo cerebral y la atrofia (Weiner *et al.*, 2010; Trojanowski *et al.*, 2010).

Cada tipo de tecnología tiene sus ventajas y sus inconvenientes que habrá que evaluar en cada caso concreto. Sin embargo, su utilización nos permitirá determinar en una etapa temprana del desarrollo clínico si el agente en cuestión está induciendo en el paciente los cam-

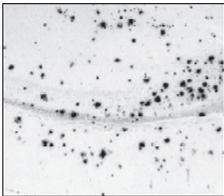
**A: Los dos componentes mayores de la investigación traslacional**



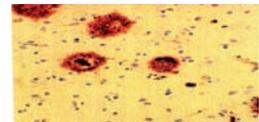
- Modelos experimentales predictivos:
  - Construcción del modelo.
  - Parámetros de evaluación relevantes.
- Biomarcadores para la investigación clínica:
  - Selección de pacientes.
  - Prueba de mecanismo.
  - Prueba del concepto.
  - Seguridad del medicamento.
  - Marcadores de eficacia.



**B: Investigación traslacional: promover la innovación y disminuir el riesgo**



- Innovación
- Nuevas hipótesis
- Nuevas estrategias farmacológicas
- Validación de parámetros



- Disminuir el riesgo
- Identificación de candidatos
- Predicción de dosis
- Identificación de biomarcadores



*Figura 8. Investigación traslacional en la enfermedad de Alzheimer. A: La investigación traslacional debe ser considerada como un puente entre los modelos experimentales y los pacientes. Los biomarcadores son la pasarela de este puente. B: La investigación traslacional debe ser bidireccional y tener como objetivos promover la innovación terapéutica y aumentar la probabilidad de éxito durante el desarrollo clínico.*

bios observados en el animal (prueba de mecanismo y prueba de concepto). Además, va a posibilitar el seleccionar de forma fiable las dosis y frecuencia de administración que se utilizarán en los grandes estudios multicéntricos, necesarios para demostrar la eficacia terapéutica. Por lo tanto, la utilización de los biomarcadores debe aumentar la probabilidad de éxito durante el desarrollo o, alternativamente, explicar el fracaso e invalidar una hipótesis terapéutica. Esta estrategia se ha aplicado o se está aplicando de una forma eficaz a varios estudios clínicos, como los de segamacestat (Portelius *et al.*, 2010), bapineuzumab (Kerchner y Boxer, 2010) y AZ-103 (Choi *et al.*, 2010).

Un último aspecto sumamente importante son los biomarcadores de diagnóstico, de los que se espera que permitan seleccionar de forma segura los pacientes en etapas muy precoces o precursoras de la enfermedad. Esto es así porque se considera que los tratamientos *disease modifier* tendrían más probabilidad de ser eficaces en etapas muy tempranas de la enfermedad. Estos biomarcadores serán utilizados, en asociación con las baterías de evaluación cognitiva, con el fin de seleccionar mejor a los pacientes y permitir realizar estudios sobre agentes que se esperan prevengan la aparición de la enfermedad (Dubois *et al.*, 2007; Petersen, 2009; Waldemar *et al.*, 2007; Van Rossum *et al.*, 2010).

## Conclusión y perspectivas

La enfermedad de Alzheimer es y será aún más en los próximos años un grave problema médico, social y económico.

Aunque la intensa investigación realizada hasta ahora ha permitido conocer algunos de los mecanismos implicados en esta enfermedad, muchos aspectos de suma importancia siguen todavía sin definir. Esta actividad investigadora ha identificado, además, un gran número de blancos farmacológicos posibles que han dado lugar a muchos proyectos de descubrimiento de medicamentos. Sin embargo, ninguno de estos proyectos ha permitido hasta la fecha poner a disposición de los pacientes un medicamento capaz de modificar la progresión de la enfermedad. Se consideran como causas posibles de este fracaso la falta de poder predictivo de los modelos experimentales disponibles y el diseño inapropiado de los estudios clínicos. Por eso, es de una importancia fundamental potenciar las tecnologías que permitan una mejor conexión entre el laboratorio y el paciente (*bench to bed*), como son los biomarcadores y los modelos experimentales. Además, debemos profundizar nuestro conocimiento sobre la evolución de la enfermedad (<http://www.c-path.org/CAMDcodr.cfm>) y utilizar este conocimiento como referencia para validar o invalidar los modelos experimentales y definir nuevos blancos moleculares (*bed to bench*).

Todo esto llevará aún mucho tiempo, por lo que es importante considerar y evaluar en paralelo estrategias alternativas, como el control de los factores de riesgo (cardiovasculares, metabólicos...) mediante la utilización de medicamentos y cambios en los hábitos alimentarios, así como una actividad intelectual y física (Ramesh *et al.*, 2010; Arab y Sebbagh, 2010; Morris, 2009).

*Agradecimientos: doy las gracias a Eva Valdivia, Juan Llopis y Ana Llopis (Universidad de Granada) y Francisco Moreno (Universidad Autónoma de Madrid) por su lectura crítica y sus comentarios, que me han sido de una gran utilidad en la redacción de este documento.*

## Bibliografía recomendada

Alzheimer's Association. 2010 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2010; 6(2):158-94.

Arab L, Sabbagh MN. Are certain lifestyle habits associated with lower Alzheimer's disease risk? *J Alzheimers Dis.* 2010; 20(3):785-94.

Ashe KH, Zahs KR. Probing the biology of Alzheimer's disease in mice. *Neuron.* 2010 Jun 10; 66(5):631-45.

Bertram L, Tanzi RE. Genome-wide association studies in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 2009; 18(R2):R137-45.

Bertram L, Tanzi RE. Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta-analyses. *Nat Rev Neurosci.* 2008; 9(10):768-78.

Brouwers N, Slegers K, Van Broeckhoven C. Molecular genetics of Alzheimer's disease: an update. *Ann Med.* 2008; 40(8):562-83.

Choi JK, Carreras I, Dedeoglu A, Jenkins BG. Detection of increased scyllo-inositol in brain with magnetic resonance spectroscopy after dietary supplementation in Alzheimer's disease mouse models. *Neuropharmacology.* 2010 Sep-Oct; 59(4-5):353-7.

Chow VW, Mattson MP, Wong PC, Gleichmann M. An overview of APP processing enzymes and products. *Neuromolecular Med.* 2010; 12(1):1-12.

Citron M. Alzheimer's disease: strategies for disease modification. *Nat Rev Drug Discov.* 2010; 9(5):387-98.

Crews L, Rockenstein E, Masliah E. APP transgenic modeling of Alzheimer's disease:

mechanisms of neurodegeneration and aberrant neurogenesis. *Brain Struct Funct.* 2010; 214(2-3):111-26.

Cribbs DH. Abeta DNA vaccination for Alzheimer's disease: focus on disease prevention. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2010; 9(2):207-16.

De Toledo Ferraz Alves TC, Ferreira LK, Wajngarten M, Busatto GF. Cardiac disorders as risk factors for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2010; 20(3):749-63.

Dickstein DL, Walsh J, Brautigam H, Stockton SD Jr, Gandy S, Hof PR. Role of vascular risk factors and vascular dysfunction in Alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med.* 2010; 77(1):82-102.

Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, Galasko D, Gauthier S, Jicha G, Meguro K, O'Brien J, Pasquier F, Robert P, Rossor M, Salloway S, Stern Y, Visser PJ, Scheltens P. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol.* 2007; 6(8):734-46.

Feldman HH, Doody RS, Kivipelto M, Sparks DL, Waters DD, Jones RW, Schwam E, Schindler R, Hey-Hadavi J, DeMicco DA, Breazna A; LEADe Investigators. Randomized controlled trial of atorvastatin in mild to moderate Alzheimer disease: LEADe. *Neurology.* 2010; 74(12):956-64.

Finkelstein R, Miller T, Baughman R. The challenge of translational research--a perspective from the NINDS. *Nat Neurosci.* 2002; 5(Suppl.):1.029-30.

Fonseca AC, Resende R, Oliveira CR, Pereira CM. Cholesterol and statins in Alzheimer's disease: current controversies. *Exp Neurol.* 2010; 223(2):282-93.

Fu HJ, Liu B, Frost JL, Lemere CA. Amyloid-beta immunotherapy for Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2010; 9(2):197-206.

Gong CX, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Targeting tau protein in Alzheimer's disease. *Drugs Aging.* 2010; 27(5):351-65.

- Grill JD, Cummings JL. Current therapeutic targets for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother.* 2010; 10(5):711-28.
- Gustavsson A, Jonsson L, Rapp T, Reynish E, Ousset PJ, Andrieu S, Cantet C, Winblad B, Vellas B. Differences in Resource Use and Costs of Dementia Care between European Countries: Baseline Data from the ICTUS Study. *J Nutr Health Aging.* 2010; 14(8):648-54.
- Hernández F, De Barreda EG, Fuster-Matanzo A, Goñi-Oliver P, Lucas JJ, Avila J. The role of GSK3 in Alzheimer disease. *Brain Res Bull.* 2009; 80(4-5):248-50.
- Hernández F, Avila J. Tau aggregates and tau pathology. *J Alzheimers Dis.* 2008; 14(4):449-52.
- Kandiah N, Feldman HH. Therapeutic potential of statins in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci.* 2009; 283(1-2):230-4.
- Kerchner GA, Boxer AL. Bapineuzumab. *Expert Opin Biol Ther.* 2010; 10(7):1.121-30.
- Kim D, Tsai LH. Bridging physiology and pathology in AD. *Cell.* 2009; 137(6):997-1.000.
- Kivipelto M, Helkala EL, Laakso MP, Hänninen T, Hallikainen M, Alhainen K, Soininen H, Tuomilehto J, Nissinen A. Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal, population based study. *BMJ.* 2001; 322(7300):1.447-51.
- Kuller LH. Statins and dementia. *Curr Atheroscler Rep.* 2007; 9(2):154-61.
- Laxton AW, Tang-Wai DF, McAndrews MP, Zumsteg D, Wennberg R, Keren R, Wherrett J, Naglie G, Hamani C, Smith GS, Lozano AM. A phase I trial of deep brain stimulation of memory circuits in Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 2010; 68(4):521-34.
- Lemere CA, Masliah E. Can Alzheimer disease be prevented by amyloid-beta immunotherapy? *Nat Rev Neurol.* 2010; 6(2):108-19.
- Li Y, Grupe A. Genetics of late-onset Alzheimer's disease: progress and prospect. *Pharmacogenomics.* 2007; 8(12):1.747-55.
- Luck T, Luppa M, Briel S, Riedel-Heller SG. Incidence of mild cognitive impairment: a systematic review. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010; 29(2):164-75.
- Marks N, Berg MJ. BACE and gamma-secretase characterization and their sorting as therapeutic targets to reduce amyloidogenesis. *Neurochem Res.* 2010; 35(2):181-210.
- McGuinness B, O'Hare J, Craig D, Bullock R, Malouf R, Passmore P. Statins for the treatment of dementia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010; 8:CD007514.
- McGuinness B, Passmore P. Can statins prevent or help treat Alzheimer's disease? *J Alzheimers Dis.* 2010; 20(3):925-33.
- McGuinness B, Craig D, Bullock R, Passmore P. Statins for the prevention of dementia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009; (2):CD003160.
- Miller G. Alzheimer's biomarker initiative hits its stride. *Science.* 2009 Oct 16; 326(5951):386-9. PubMed PMID: 19833956.
- Miners JS, Baig S, Palmer J, Palmer LE, Kehoe PG, Love S. Abeta-degrading enzymes in Alzheimer's disease. *Brain Pathol.* 2008; 18(2):240-52.
- Morris MC. The role of nutrition in Alzheimer's disease: epidemiological evidence. *Eur J Neurol.* 2009; 16(Suppl. 1):1-7.
- Nalivaeva NN, Fisk LR, Belyaev ND, Turner AJ. Amyloid-degrading enzymes as therapeutic targets in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 2008; 5(2):212-24.
- Perrin RJ, Fagan AM, Holtzman DM. Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature.* 2009; 461(7266):916-22.
- Petersen RC. Early diagnosis of Alzheimer's disease: is MCI too late? *Curr Alzheimer Res.* 2009; 6(4):324-30.
- Portelius E, Dean RA, Gustavsson MK, Andreasson U, Zetterberg H, Siemers E, Blennow K. A novel Abeta isoform pattern in CSF reflects gamma-secretase inhibition in Alzheimer disease. *Alzheimers Res Ther.* 2010; 2(2):7.

- Rafii MS. The pulse of drug development for Alzheimer's disease. *Rev Recent Clin Trials*. 2010; 5(1):57-62.
- Ramesh BN, Rao TS, Prakasam A, Sambamurti K, Rao KS. Neuronutrition and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2010; 19(4):1.123-39.
- Röhn TA, Bachmann MF. Vaccines against non-communicable diseases. *Curr Opin Immunol*. 2010; 22(3):391-6.
- Russell DW, Halford RW, Ramirez DM, Shah R, Kotti T. Cholesterol 24-hydroxylase: an enzyme of cholesterol turnover in the brain. *Annu Rev Biochem*. 2009; 78:1.017-40.
- Scahill RI, Schott JM, Stevens JM, Rossor MN, Fox NC. Mapping the evolution of regional atrophy in Alzheimer's disease: unbiased analysis of fluid-registered serial MRI. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99(7):4.703-7.
- Trojanowski JQ, Vandeersticbele H, Korecka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, Blennow K, Soares H, Simon A, Lewczuk P, Dean R, Siemers E, Potter WZ, Weiner MW, Jack CR Jr, Jagust W, Toga AW, Lee VM, Shaw LM. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Update on the biomarker core of the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative subjects. *Alzheimers Dement*. 2010; 6(3):230-8.
- Townsend M, Cleary JP, Mehta T, Hofmeister J, Lesne S, O'Hare E, Walsh DM, Selkoe DJ. Orally available compound prevents deficits in memory caused by the Alzheimer amyloid-beta oligomers. *Ann Neurol*. 2006; 60(6):668-76.
- Van Rossum IA, Vos S, Handels R, Visser PJ. Biomarkers as predictors for conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer-type dementia: implications for trial design. *J Alzheimers Dis*. 2010; 20(3):881-91.
- Vance JE, Hayashi H. Formation and function of apolipoprotein E-containing lipoproteins in the nervous system. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1.801(8):806-18.
- Waldemar G, Dubois B, Emre M, Georges J, McKeith IG, Rossor M, Scheltens P, Tariska P, Winblad B; EFNS. Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia: EFNS guideline. *Eur J Neurol*. 2007; 14(1):e1-26.
- Wang XP, Ding HL. Alzheimer's disease: epidemiology, genetics, and beyond. *Neurosci Bull*. 2008; 24(2):105-9.
- Weiner MW, Aisen PS, Jack CR Jr, Jagust WJ, Trojanowski JQ, Shaw L, Saykin AJ, Morris JC, Cairns N, Beckett LA, Toga A, Green R, Walter S, Soares H, Snyder P, Siemers E, Potter W, Cole PE, Schmidt M; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. The Alzheimer's disease neuroimaging initiative: progress report and future plans. *Alzheimers Dement*. 2010; 6(3):202-11.e7.
- Williams M. Progress in Alzheimer's disease drug discovery: an update. *Curr Opin Investig Drugs*. 2009; 10(1):23-34.
- Wimo A, Winblad B, Jönsson L. The worldwide societal costs of dementia: Estimates for 2009. *Alzheimers Dement*. 2010; 6(2):98-103.
- Wisniewski T, Boutajangout A. Immunotherapeutic approaches for Alzheimer's disease in transgenic mouse models. *Brain Struct Funct*. 2010; 214(2-3):201-18.
- Wisniewski T, Boutajangout A. Vaccination as a therapeutic approach to Alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med*. 2010; 77(1):17-31.
- Wollmer MA. Cholesterol-related genes in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1.801(8):762-73.
- Wolozin B, Kellman W, Ruosseau P, Celesia GG, Siegel G. Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch Neurol*. 2000; 57(10):1.439-43.
- Young AB. Four decades of neurodegenerative disease research: how far we have come! *J Neurosci*. 2009; 29(41):12.722-8.



# ¿Existen factores protectores frente a la enfermedad de Alzheimer?

**Pablo Martínez Martín.** *Director Científico Unidad de Investigación del Proyecto Alzheimer, Fundación CIEN – Fundación Reina Sofía, Centro Alzheimer Fundación Reina Sofía y miembro del CIBERNED. Instituto de Salud Carlos III.*

## Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA), descrita hace poco más de un siglo (Alzheimer, 1907), es una entidad clinicopatológica perteneciente al grupo de las denominadas “enfermedades neurodegenerativas”.

### Enfermedades neurodegenerativas

Se denomina de este modo a un conjunto de enfermedades de causa desconocida que afectan al sistema nervioso. Para muchas de ellas se ha propuesto un origen basado en cierta susceptibilidad genética, influenciado por factores ambientales. Desde el punto de vista clínico, sus manifestaciones dependen de los sistemas neurales afectados y del tiempo de evolución, ya que empiezan a expresarse clínicamente cuando la reserva funcional de los sistemas afectados comienza a claudicar tras meses o años de afectación inaparente. Habitualmente, su comienzo es insidioso y la evolución es lentamente progresiva, prolongándose durante años.

Desde el punto de vista patológico, existe pérdida de neuronas en áreas específicas del sistema nervioso,

alteración en algún paso del metabolismo de determinadas proteínas y algunos hallazgos patológicos característicos de la enfermedad en el tejido nervioso de los afectados.

Ejemplos de este tipo de padecimientos son la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, etc.

Se caracteriza por afectar, fundamentalmente, estructuras de la corteza cerebral temporal medial (hipocampo y parahipocampo), causando pérdida progresiva e incapacitante de memoria, además de otros déficits cognitivos que llevan al afectado a un estado de demencia, discapacidad absoluta y, finalmente, al *exitus*. Desde el punto de vista neuropatológico, las dos lesiones características de la EA son las placas seniles y la degeneración neurofibrilar.

La causa primaria de la enfermedad es desconocida en la actualidad, aunque existe un pequeño porcentaje de casos de claro origen genético (< 1-2%, con herencia autosómica dominante) causados por la mutación en uno de los tres genes identificados con tal capacidad: APP, PSEN1 y PSEN2, relacionados con las proteínas amiloide beta A4, presenilina 1 y presenilina 2,

respectivamente. En alrededor del 20-25% de los casos de EA hay dos o más casos de EA en la familia (EA familiar) y el resto, 75-80%, se denomina EA esporádica.

Cuando la enfermedad se inicia antes de los 65 años (límite arbitrario habitual, con fines clasificatorios) se denomina "EA de comienzo precoz o temprano" (1-5% de los casos) y si se manifiesta a partir de los 65 años, "EA de inicio tardío" ( $\geq 95\%$ ). Se estima que alrededor del 60% de los casos de EA de inicio precoz son EA familiar, al igual que 15-20% de los casos de inicio tardío (Bird TD, 2010).

En la EA familiar de inicio tardío se han identificado algunos genes de susceptibilidad con características moleculares especiales que pueden interactuar con otros factores para incrementar el riesgo de padecer la enfermedad, pero cuya presencia no confirma que se vaya a padecer. El mejor caracterizado es el alelo APOE $\epsilon$ 4 que parece adelantar la presentación de la enfermedad a una edad más temprana. Otros genes de susceptibilidad (como SORL1, CALHM1, CLU, CR1 y PICALM) y candidatos se encuentran en investigación actualmente.

La forma esporádica de EA, la más frecuente, se ha relacionado con multitud de factores de riesgo, pero se desconoce su patogénesis exacta. La hipótesis más común sustenta que resulta de una combinación de predisposición genética, envejecimiento y factores ambientales, entre los que se incluye la mala nutrición y otros factores que limitan el desarrollo en la infancia, bajo nivel educativo, traumatismos craneales, inactividad física y mental, etc. La "teoría de los cofactores" propone que sólo la forma familiar de la EA debe recibir ese nombre, mientras la

esporádica sería una de las "demencias relacionadas con la edad". Éstas se agruparían en subtipos según los cofactores presentes en esos casos (beta-amiloide, tau hiperfosforilada, alteraciones de la neurotransmisión, anomalías vasculares, estrés oxidativo, toxinas ambientales, apoptosis, etc.) (McDonald *et al.*, 2010).

## El impacto de la enfermedad de Alzheimer

La EA es un problema de salud pública debido a su elevada prevalencia (prevalencia: proporción de la población que presenta la enfermedad en un momento específico; en España, aproximadamente, 8% de los mayores de 70 o más años) (De Pedro-Cuesta *et al.*, 2009) y a la repercusión que tiene sobre el individuo, su entorno próximo y la sociedad en conjunto.

Como es bien sabido, el paciente con EA pierde progresivamente sus habilidades cognitivas y su capacidad para la vida habitual hasta la dependencia completa de otras personas y el *exitus* (Tschanz *et al.*, 2004; Morris JC, 2005).

Los "cuidadores no profesionales" del paciente con EA sufren el impacto de la enfermedad sobre aspectos de su salud física y psicológica, limitaciones en su rol y relaciones sociales, detrimento de la calidad de vida y pérdidas económicas, un conjunto de alteraciones conocido como "carga del cuidador" (Donaldson y Burns, 1999).

Finalmente, la enorme cantidad de recursos que requiere la atención a los pacientes con EA repercute en la sociedad en conjunto. En términos económicos, en 2009, se calculó que el coste de la demencia a nivel mundial (para unos 34 millones de individuos afect-

tos) ascendió a 422.000 millones de dólares, lo que supone un incremento del 18% (precios fijos) en el lustro 2004-2009. Para España, la cifra se estimó en unos 14.000 millones de euros (Wimo *et al.*, 2010). Teniendo en cuenta estas cifras, recordando que alrededor del 60% de todos los casos de demencia son EA y que las previsiones indican que el número de personas afectas casi se doblará en el plazo de 40 años, podemos hacernos una idea de la amenaza de la "epidemia" de EA para el estado de bienestar y la economía de los estados (Wancata *et al.*, 2003; Olesen y Leonardi, 2003; Andlin-Sobocki *et al.*, 2005).

En la actualidad se dispone de una terapia farmacológica específica contra la EA limitada, tanto en mecanismos de acción como en resultados de eficacia. Los inhibidores de la acetilcolinesterasa (donepezilo, galantamina, rivastigmina) y la memantina, antagonista del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), producen un efecto beneficioso modesto en la población en la que están indicados (en general, EA leve a moderada y moderada a grave, respectivamente). Además, existe una diversidad de técnicas de "intervención no farmacológica" o "intervención cognitiva" (entrenamiento de la memoria, orientación a la realidad, reminiscencia, estimulación sensorial, etc.) cuyo objetivo es potenciar, mantener o recuperar las capacidades cognitivas, la capacidad para las actividades de la vida diaria, la socialización y la calidad de vida. Actualmente se acepta la utilidad de este tipo de intervenciones para pacientes con EA leve y moderada, aunque la magnitud de su efecto no se ha establecido con exactitud. (Olarán J *et al.*, 2004; Sitzer *et al.*, 2006).

Ante la situación esbozada en esta sección, la posibilidad de que existan medidas preventivas que actúen neutralizando los factores de riesgo o potenciando los factores protectores suponen un aspecto muy importante de la lucha contra la EA. La lógica establece que será siempre más útil evitar un daño que repararlo, lema absolutamente pertinente si se considera que, en la EA, la patología puede estar activa desde décadas antes de iniciarse los síntomas, permitiendo actuaciones que retrasen o eviten el desarrollo de la demencia, y que en el cerebro la reparación de las lesiones y la restauración de las funciones es muy difícil o imposible.

## Factores de riesgo

Existe una lista de factores de riesgo para EA. Algunos, como la edad o la historia familiar son irrefutables, pero queda por desvelar el papel real de otros, como la obesidad, la anemia o la hiperhomocisteinemia. En muchos de estos casos, la interacción entre diversos factores ha impedido obtener evidencia definitiva sobre la potencial responsabilidad de un factor individual en el desarrollo de la EA (por ejemplo, nivel socioeconómico, nivel educativo, actividad laboral, nivel de ingresos).

Para que un factor de riesgo o protector pueda ser considerado como tal debe cumplir unos requisitos (Kawas HC, 2006):

- Consistencia de los hallazgos.
- Especificidad de la asociación.
- Relación temporal apropiada.
- Relación dosis-respuesta.
- Plausibilidad biológica.

La evidencia para proponer y confirmar un factor como de riesgo o protector proviene

de los estudios epidemiológicos, ciencias básicas y experimentación animal, estudios de prueba de concepto y estudios de intervención en humanos. A continuación, revisaremos algunos de los factores de riesgo y protectores más destacados (tabla 1).

**Tabla 1. Factores de riesgo para enfermedad de Alzheimer.**

No modificables
Edad
Sexo femenino
Historia familiar
Factores genéticos
Modificables
Bajo nivel educativo *
Alimentación deficiente
Bajo nivel de ingresos
Actividad laboral de bajo nivel
Escaso nivel de actividad física, mental y social
Ingesta excesiva de calorías y grasa
Obesidad
Hipertensión arterial **
Hipercolesterolemia (lipoproteína de baja densidad) **
Diabetes mellitus *
Cardiopatía
Enfermedad cerebrovascular *
Hiperhomocisteinemia
Niveles bajos de folato y vitamina B <sub>12</sub>
Anemia
Trauma craneal *
Depresión en edad avanzada *
Respuesta excesiva al estrés
Hipertiroidismo
Alcoholismo
Tabaquismo *
Abuso de otras sustancias y drogas
Exposición a toxinas (pesticidas) *
En los factores de riesgo modificables:
* Con varios estudios consistentes y escasas discrepancias.
** Sobre todo en la edad media de la vida.

### Factores de riesgo no modificables

Algunos factores de riesgo son imposibles de modificar. La edad, el sexo y la historia familiar pertenecen a ese conjunto, al igual que (al menos en la actualidad) los factores genéticos. La EA es infrecuente antes de los 65 años, pero a partir de esa edad su prevalencia se duplica cada 5 años (0,5-1% a los 65; 2% a los 70; 4-5% a los 75; 8-10% a los 80, etc.) (McDowell I, 2001). Se desconoce si la edad es en sí misma un factor de riesgo o sólo representa la condición para que actúen otros factores y combinen sus efectos (McDonald *et al.*, 2010). Las mujeres tienen mayor riesgo de padecer EA, incluso en edades muy avanzadas (Birge, 1997; Lauer *et al.*, 1999; Fratiglioni *et al.*, 2000; Carrillo-Alcalá y Bermejo-Pareja, 2008). Los individuos con antecedentes de EA en familiares de primer grado (sin tener en cuenta aquellos con herencia autosómica dominante) tienen un incremento del riesgo que les correspondería por edad (Van Duijn *et al.*, 1991; Geldmacher y Farlow, 2010). Los factores genéticos ya han sido comentados en la introducción.

### Factores de riesgo modificables

El nivel de evidencia acerca de la implicación de algunos de estos factores en la presentación y desarrollo de la EA es menor que para los no modificables. Las observaciones que han dado lugar a su propuesta son inferenciales en ocasiones, obtenidas indirectamente de estudios cuyo objetivo era otro que demostrar la responsabilidad del factor en la

etiopatogenia de la enfermedad. No obstante, de acuerdo con la "teoría de los cofactores" (McDonald *et al.*, 2010), la EA podría ser el resultado de la interacción entre diversas combinaciones de cofactores. La demostración de que cada uno de ellos está implicado de algún modo en la etiopatogenia de la enfermedad puede ser muy difícil utilizando la metodología tradicional. Es muy posible que, en el futuro, la combinación del conocimiento en genómica, proteómica, transcriptómica y metabólica pueda delimitar claramente la patogénesis de la EA y su diagnóstico mediante metodología de sistemas complejos aplicada a las redes celulares (Loscalzo *et al.*, 2007).

Este capítulo centra su atención sobre los factores preventivos de la EA, no sobre los de riesgo.

Sin embargo, algunas consideraciones sobre estos últimos parecen pertinentes:

1. Desde la perspectiva de la prevención primaria, la evitación o neutralización de factores de riesgo es de la máxima importancia: el primer paso en la prevención es combatir los factores de riesgo.
2. Algunos de los factores de riesgo para demencia y EA listados en la tabla 1 son sólo "potencialmente modificables", ya que su presencia y efecto podrían ser evitados, pero las circunstancias pueden impedirlo o, cuando se constatan, pueden ser irreversibles (por ejemplo, alimentación deficiente y escaso nivel educativo en la infancia por situación social desfavorable, o traumatismo craneal).
3. Varios de los factores enumerados pueden agruparse frecuentemente en conjuntos que los interrelacionan. Así, bajo nivel educativo, alimentación deficiente, bajo nivel de ingresos, actividad laboral de bajo nivel y escasa actividad mental se pueden observar en poblaciones con bajo nivel socioeconómico, siendo ésta la denominación que define al conjunto. Otro tanto sucede con los denominados "factores de riesgo vascular", que agrupan a trastornos como hipertensión arterial, ingesta excesiva de calorías y grasa, obesidad, hipercolesterolemia, hiperhomocisteinemia, diabetes mellitus y cardiopatía, y con los "factores de riesgo por abuso" (alcoholismo, tabaquismo, drogadicción) (Biessels *et al.*, 2006; Borenstein *et al.*, 2006; Ownby *et al.*, 2006; Zavaloni Scalco y Van Reekum, 2006; Patterson *et al.*, 2007; Anstey *et al.*, 2008; Panza *et al.*, 2009; García *et al.*, 2010; Plassman *et al.*, 2010; Qiu *et al.*, 2010).
4. Además, algunos factores pueden influir en otros, ejerciendo como riesgo transversal (por ejemplo, bajo nivel educativo y clase socioeconómica baja pueden condicionar alimentación inadecuada, abuso de sustancias tóxicas, falta de control de los factores de riesgo vascular, escasa actividad intelectual y ocupación de bajo nivel) (Kim *et al.*, 2008; Akbaraly *et al.*, 2009). Por esta causa, a veces resulta difícil deslindar la influencia de factores aislados. Por ejemplo, puede atribuirse a factores socioeconómicos desfavorables en la infancia, y no a la raza, que los afro-

americanos del sur de Estados Unidos tengan mayores tasas de deterioro cognitivo que los blancos (Sachs-Ericsson y Blazer, 2005).

5. Algunos factores de riesgo son susceptibles de modificación en etapas medias de la vida y la intervención sobre ellos puede resultar importante. Entre ellos se consideran los factores de riesgo vascular, la dieta inadecuada, el sedentarismo y la falta de actividad mental. Traumatismo craneal, depresión, consumo exagerado de alcohol, tabaquismo, o profesión de bajo nivel son más difícilmente modificables (Hughes y Ganguli, 2009, 2010).

## Factores protectores

Por factor protector entendemos, fundamentalmente, aquel que influye sobre la enfermedad impidiendo su desarrollo, aunque en determinados contextos también lo serían aquellos capaces de retrasar el comienzo de la enfermedad, enlentecer su curso o atenuar sus manifestaciones.

La investigación en este terreno es, habitualmente, lenta, expuesta a sesgos y de elevado coste. Además, una vez identificado un factor protector, su implantación en la sociedad puede ser muy difícil y los efectos conseguidos, parciales y tardíos. Sin embargo, desde la perspectiva de la salud pública y la prevención primaria, dichos efectos pueden ser muy importantes en magnitud. En la EA, por ejemplo, si se consiguiera un retraso del comienzo de la enfermedad en 5 años, la prevalencia disminuiría casi en un 50% pues, dada la edad en la que

acontece, permitiría la actuación de otras causas de muerte antes de que el individuo llegara a presentar demencia (Brookmeyer *et al.*, 1998).

A la hora de plantear si un factor tiene capacidad preventiva, existe una serie de preguntas que deben ser contestadas satisfactoriamente antes de aceptarlo como tal y promocionar su aplicación.

### Comprobando la evidencia para un presunto factor protector

- ¿Es realmente protector o sintomático/paliativo?
- ¿Qué tipo de protección ofrece?
- ¿Cuándo debe estar activo para ejercer esa función?
- ¿A qué tipo de población beneficia realmente?
- ¿Qué "dosis" es necesaria para que sea eficaz?
- ¿Durante cuánto tiempo debe estar activo?
- ¿Qué magnitud tiene el efecto que produce?
- ¿Es sinérgico o antagónico con otros factores protectores?
- ¿Tiene efectos secundarios?

En la tabla 2 se expone un listado de los factores propuestos como protectores con mayor aceptación y posibilidades. Como se observa, son agrupables en tres conjuntos: 1) nivel educativo y actividad, 2) factores dietéticos y vitaminas, y 3) medicamentos. Revisaremos los per-

tenecientes a los dos primeros grupos, que pueden relacionarse con el estilo de vida.

**Tabla 2. Factores protectores frente a la enfermedad de Alzheimer.**

Alto nivel educativo
Actividad intelectual
Actividad social y red social amplia
Actividad física
Vitaminas B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub> y ácido fólico
Vitaminas C y E y beta-caroteno
Ácidos grasos insaturados (omega-3)
Dieta (mediterránea, pescado)
Consumo moderado de alcohol
Cafeína
Estatinas
Antiinflamatorios no esteroideos

### Nivel educativo

El analfabetismo y un bajo nivel educativo se asocia a un incremento considerable del riesgo de demencia (De Ronchi *et al.*, 1998; Launer *et al.*, 1999; Mortimer *et al.*, 2003). Por el contrario, un alto nivel educativo parece ejercer un efecto protector y modificar incluso la relación entre la carga de lesiones patológicas de EA y el nivel de función cognitiva (Green *et al.*, 2000; Bennett *et al.*, 2003). Ese efecto puede ser debido a modificaciones estructurales (sinapsis, espinas neuronales) y funcionales (circuitos y redes neurales) resultantes del aprendizaje; al incremento de la distancia entre el umbral cognitivo adquirido y el que hace ostensible la demencia (reserva cerebral); a un efecto sobre otros factores relacionados (por ejemplo, ocu-

pación y nivel socioeconómico), o a otras razones, pero es un hecho constatado (Katzman, 1993; Lusting y Buckner, 2004; Shenkin *et al.*, 2003; Gatz *et al.*, 2007; Ngandu *et al.*, 2007; Sando *et al.*, 2008; Garibotto *et al.*, 2008).

### Actividad mental

La actividad mental compleja y el aprendizaje, en cualquier periodo de la vida (infancia, adulta y avanzada), parece acompañarse de una reducción significativa de la incidencia de deterioro cognitivo y demencia, incluso con evidencia de una relación dosis-respuesta (Valenzuela y Sachdev, 2006). Esta asociación negativa entre actividad cognitiva y deterioro también se ha encontrado específicamente para la EA (Verghese *et al.*, 2003; Wilson *et al.*, 2002; Wilson *et al.*, 2007). Sin embargo, no existe suficiente evidencia para asegurar que la participación activa en actividades cognitivas conlleva una influencia causal en la disminución del riesgo, ni se ha dilucidado si algunas modalidades de esa actividad son más favorables que otras (Stern y Munn, 2010).

### Actividad social y actividades de ocio

La actividad social y de ocio también ha sido relacionada con un decremento del riesgo de deterioro cognitivo o demencia (Arbuckle *et al.*, 1998; Fratiglioni *et al.*, 2000; Scarmeas *et al.*, 2001; Menec, 2003; Wang *et al.*, 2006) y de EA (Fratiglioni *et al.*, 2004). Es llamativo el hallazgo de una modificación de la relación inversa entre las medidas de función cognitiva y patología cerebral de EA en función del tamaño de la red social, sugieren-

do que algo relacionado con la red o actividad social proporciona algún tipo de "reserva" que reduce el efecto deletéreo de la patología tipo EA sobre el estado cognitivo en la edad avanzada (Bennet *et al.*, 2006). Sin embargo, la evidencia a favor del efecto de la actividad social es inconsistente, con mejor consistencia para las actividades de ocio, sobre todo de tipo cognitivo (Coley *et al.*, 2008; Plassman *et al.*, 2010).

Un punto de interés sobre este aspecto es que la participación o no en ciertas actividades podría estar relacionada con la capacidad cognitiva en lugar de condicionarla (Wang *et al.*, 2006) y que existe, desde primeras épocas de la vida, un condicionamiento por la educación que se refleja en el estilo de vida, actividades de ocio, ocupación, etc. (Gatz *et al.*, 2006).

### Actividad física

Para un estado de salud óptimo se recomienda actividad física regular, que disminuye la mortalidad global, la obesidad, y el riesgo cardiovascular, de diabetes no insulino-dependiente, cáncer, hipertensión y osteoporosis. Sus efectos beneficiosos sobre el sistema cardiovascular y el metabolismo son evidentes, pero además mejora la depresión, mejora la neurogénesis y el aprendizaje y puede disminuir la deposición de proteína beta-amiloide en el cerebro (Fusco *et al.*, 2007). Tanto estudios observacionales epidemiológicos como de intervención sugieren que la actividad física puede actuar como un factor protector frente a deterioro cognitivo y a EA, en ambos sexos y también a edades avanzadas (Laurin *et al.*, 2001; Abbott *et al.*, 2004; Lytle *et al.*, 2004;

Van Gelder *et al.*, 2004; Weuve *et al.*, 2004; Rovio *et al.*, 2005; Andel *et al.*, 2008; Coley *et al.*, 2008; Lautenschlager *et al.*, 2008). Sin embargo, no todos los estudios son concordantes, y algunos han encontrado resultados claramente conflictivos acerca del papel protector del ejercicio físico sobre el deterioro cognitivo o la EA (Wang *et al.*, 2008; Coley *et al.*, 2008). En conjunto, hoy se considera que no existe evidencia suficiente para asegurar que la actividad física previene el deterioro cognitivo o la EA y existe incertidumbre acerca de su papel como factor aislado (Plassman *et al.*, 2010). Tampoco se cuenta con datos suficientes sobre el efecto de diferentes tipos de ejercicio (¿aerobio, anaerobio o mixto?, ¿con actividad motora compleja o simple?, ¿suave o intenso?), dosis, intensidad o duración del mismo.

### Dieta

Se ha investigado abundantemente acerca de la influencia de diversos factores dietéticos sobre el desarrollo del deterioro cognitivo, en general, y en la EA. Un estado proinflamatorio y oxidante puede favorecer el desarrollo de algunos procesos neurodegenerativos y una dieta inadecuada puede favorecer dicho estado. Por otra parte, algunos estados carenciales (por ejemplo, en vitaminas B) pueden afectar directamente al tejido nervioso. La pérdida de la tradicional cocina casera y mediterránea, la vida en soledad a edades avanzadas y ciertas situaciones patológicas (depresión, apatía, el propio deterioro cognitivo) que pueden modificar los hábitos alimentarios, propician la observación de casos de malnutrición incluso en nuestro medio. Por el contra-

rio, una dieta equilibrada, con el patrón mediterráneo, y ciertos nutrientes y vitaminas se han propuesto como elementos protectores frente a la pérdida de la capacidad cognitiva. Los más estudiados o relevantes son:

### **Vitaminas relacionadas con homocisteína: B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> y ácido fólico**

La hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo cardiovascular y se considera neurotóxica. Puede desarrollarse en estados carenciales de vitamina B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> y ácido fólico y, por el contrario, la administración de estos elementos corrige el exceso de homocisteína. Sin embargo, la evidencia acerca del papel de las vitaminas B y ácido fólico sobre la EA es inconsistente (Kawas, 2006; Coley *et al.*, 2008; Malouf y Grimley Evans, 2009; Daviglus *et al.*, 2010).

### **Antioxidantes: vitaminas C y E, beta-carotenos**

Los nutrientes antioxidantes neutralizan los radicales libres, actúan reduciendo las concentraciones de peróxido, reparando membranas oxidizadas y por otros mecanismos (Berger, 2005). La vitamina C, el principal antioxidante hidrosoluble, actúa como primera defensa en sangre y plasma. La combinación con vitamina E es muy efectiva para inhibir la oxidación. La vitamina E es también sinérgica con otro antioxidante, el  $\beta$ -caroteno, actuando sobre radicales libres del compartimento lipofílico. Los tres elementos, vitamina C, E y  $\beta$ -caroteno interactúan contra la peroxidación lipídica. Han sido propuestos para prevención y tratamiento de la EA (Sano *et al.*, 1997; Zandi *et al.*, 2004), pero los resultados han sido variables,

incluso conflictivos (Luchsinger *et al.*, 2003; Petersen *et al.*, 2005; Kang *et al.*, 2006; Fusco *et al.*, 2007; National Institute for Health and Clinical Excellence, 2007; Coley *et al.*, 2008). Un metaanálisis ha concluido que el suplemento con altas dosis de vitamina E puede aumentar la mortalidad por todas las causas (Miller *et al.*, 2005).

### **Ácidos grasos poli y monoinsaturados**

Los ácidos grasos poliinsaturados y, específicamente, los ácidos grasos de cadena larga omega-3 son componentes importantes del tejido cerebral. Intervienen directamente en la estructura y función de las membranas celulares, aterogénesis, coagulación e inflamación. Varios estudios sugieren que dietas ricas en ácidos grasos poli y monoinsaturados podrían disminuir el riesgo de deterioro cognitivo y demencia en ancianos, mientras que, al contrario, la dieta rica en saturados lo incrementaría (Lim *et al.*, 2006; García Closas, 2010). Los ácidos grasos omega-3 son los más estudiados. Su fuente natural son el pescado graso, de áreas frías, y el pescado azul, además de los frutos secos. Por este motivo se han recomendado las dietas ricas en este contenido y el aceite de pescado como suplemento (Friedland, 2003; Luchsinger y Mayeux, 2004; Coley *et al.*, 2008; Ramesh *et al.*, 2010; Smith y Blumenthal, 2010). Sin embargo, estudios recientes no han podido confirmar la eficacia de los ácidos grasos omega-3 en el tratamiento de la EA, aunque han dejado sin aclarar si la falta de eficacia puede depender del estadio de la enfermedad, otros mediadores dietéticos y del estado en apolipoproteína E (Van de Rest *et al.*,

2008; Cederholm y Palmblad, 2010; Jicha y Markesbary, 2010; Ramesh *et al.*, 2010).

### **Patrones dietéticos (dieta mediterránea)**

La dieta mediterránea se caracteriza por contener muchos de los componentes que se han estudiado como beneficiosos para disminuir el riesgo de deterioro cognitivo, demencia, enfermedad cardiovascular y mortalidad. Se caracteriza por: 1) elevado contenido en legumbres y verduras, cereales, frutas; 2) moderado consumo de vino, pescado y frutos secos, y 3) relativamente bajo contenido en productos lácteos y carnes. Diversos estudios han sugerido el potencial efecto preventivo de esta dieta sobre el conjunto de enfermedades cardiovasculares y degenerativas, incluyendo la EA (Scarmeas *et al.*, 2006, 2007, 2009a, 2009b; Frisardi *et al.*, 2010; Sofi *et al.*, 2010). Sin embargo, la evidencia a favor de un efecto beneficioso de la dieta mediterránea sobre el deterioro cognitivo y la EA es incompleta, sin ensayos clínicos convincentes ni demostración de efecto-dosis (Féart *et al.*, 2009; Plassman *et al.*, 2010).

Otros patrones de "dieta saludable" son también objeto de estudio. En general, se considera que un consumo moderado de pescado, grasas vegetales saludables (como el aceite de oliva), frutos secos (nueces), frutas y vegetales, con una disminución del contenido en grasas animales saturadas y productos lácteos es aconsejable y ejerce un efecto beneficioso global sobre riesgo cardiovascular, estrés oxidativo y estado proinflamatorio (Gu *et al.*, 2010a, 2010b). Además, las dietas deben estar ajustadas a umbrales adecuados de restricción calórica. Todo ello ayuda, simultánea-

mente, a evitar la obesidad, la hipertensión y otros problemas, derivados de la ingesta inadecuada en composición y cantidad (diabetes, hipercolesterolemia), que han sido relacionados con EA (Borenstein *et al.*, 2006; Ramesh *et al.*, 2010).

### **Alcohol**

El consumo moderado de alcohol disminuye el riesgo cardiovascular, favorece la actividad social y otros factores que pueden ser de interés en relación con la EA. El vino contiene, además de alcohol, algunos nutrientes derivados de la uva, como vitaminas (C y E) y resveratrol, un polifenol que disminuye el nivel de  $\beta$ -amiloide en cultivo celular. El consumo total de alcohol se ha asociado a un menor riesgo de EA, sin que se haya demostrado superioridad de un tipo de bebida alcohólica sobre otras. Un problema con la interpretación de resultados de los estudios sobre ingesta de alcohol es la discrepancia en resultados (demencia de cualquier causa vs. EA), así como la definición de las cuantías de consumo y los tipos de bebida estudiados. Algunos estudios encontraron efectos beneficiosos para demencia vascular o de todas las causas, pero no para EA, y rangos de ingesta con efecto protector desde menos de una toma a la semana a cuatro vasos de vino al día (Luchsinger y Mayeux, 2004; Zavaloni Scalco y Van Reekum, 2006; Grodstein, 2007; Peters *et al.*, 2008; Kawas *et al.*, 2010).

### **Cafeína**

Algunos estudios han encontrado una ligera reducción del riesgo de EA asociada al consumo de café, aunque dichos estudios son heterogéneos (Barranco Quintana *et al.*, 2007).

## Conclusiones

Existe una lista de factores protectores candidatos frente a la EA. No obstante, las revisiones sistemáticas y los metaanálisis llevados a cabo sobre estudios epidemiológicos y estudios de intervención no han logrado identificar ningún factor aislado que cumpla con los requisitos de un auténtico factor preventivo. Para algunos de ellos, simplemente no se han realizado aún los estudios requeridos para establecer el nivel de evidencia necesario. Por otra parte, la interpretación de estos estudios es muy complicada debido a la combinación de factores y a la variedad en tipo, pauta temporal e intensidad de las exposiciones, que introducen sesgos y factores de confusión difíciles de evitar.

A modo de mensaje práctico, se puede concluir que:

1. En la actualidad, con excepción del nivel educativo, no se ha identificado ningún factor protector con suficiente evidencia como para promover su aplicación a escala poblacional.
2. Una vida con actividad física, intelectual y social (ocupación, ocio) equilibrada, con hábitos dietéticos saludables y control y evitación de factores de riesgo (cardiovascular, toxinas, etc.) desde la infancia, deben poner al individuo en la mejor situación de salud posible para atenuar la posible predisposición a EA y a otras patologías tanto neurodegenerativas como de índole cardiovascular o de otro tipo (Zavaloni Scalco y Van Reekum, 2006; Coley *et al.*, 2008; Patterson *et al.*, 2008; Peters, 2009; Bermejo-Pareja, 2010; Daviglius *et al.*, 2010).

## Bibliografía recomendada

- Abbott RD, White LR, Ross GW, Masaki KH, Curb JD, Petrovich H. Walking and Dementia in Physically Capable Elderly Men. *JAMA*. 2004; 292:1.447-53.
- Akbaraly TN, Singh-Manoux A, Marmot MG, Brunner EJ. Education attenuates the association between dietary patterns and cognition. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2009; 27:147-54.
- Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin*. 1907; 64:146-8.
- Andel R, Crowe M, Pedersen NL, Fratiglioni L, Johansson B, Gatz M. Physical Exercise at Midlife and Risk of Dementia Three Decades Later: A Population-Based Study of Swedish Twins. *J Gerontol Med Sci*. 2008; 63A:62-66.
- Andlin-Sobocki P, Jönsson B, Wittchen HU, Olesen J. Cost of disorders of the brain in Europe. *Eur J Neurol*. 2005; 12(Suppl. 1):1-27.
- Anstey KJ, Lipnicki DM, Low LF. Cholesterol as a risk factor for dementia and cognitive decline: a systematic review of prospective studies with meta-analysis. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2008; 16:343-54.
- Arbuckle TY, Maag U, Pushkar D, Chaikelson JS. Individual differences in trajectory of intellectual development over 45 years of adulthood. *Psychol Aging*. 1998; 13:663-75.
- Barranco Quintana JL, Allam MF, Serrano del Castillo A, Fernández-Crehuet Navajas R. Alzheimer's disease and coffee: a quantitative review. *Neurol Res*. 2007; 29:91-5.
- Bennet DA, Schneider JA, Tang Y, Arnold SE, Wilson RS. The effect of social networks on the relation between Alzheimer's disease pathology and level of cognitive function in old people: a longitudinal cohort study. *Lancet Neurol*. 2006; 5:406-12.
- Bennett DA, Wilson RS, Schneider JA, Evans DA, Mendes de Leon CF, Arnold SE, et al. Education modifies the relation of AD pathology to level of cognitive function in older persons. *Neurology*. 2003; 60:1.909-15.

- Berger MM. Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clin Nutr.* 2005; 24:172-83.
- Bermejo-Pareja F. La demencia del anciano se puede prevenir. *Rev Neurol.* 2010; 51:257-8.
- Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet Neurol.* 2006; 5:64-74.
- Bird TD. Alzheimer Disease Overview. *Gene Reviews, NCBI Bookshelf*, March 2010.
- Birge SJ. The role of estrogen in the treatment and prevention of dementia: Introduction. *Am J Med.* 1997; 103(Suppl.): 1S-2S.
- Borenstein AR, Copenhaver CI, Mortimer JA. Early-Life Risk Factors for Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2006; 20:63-72.
- Brookmeyer R, Gray S, Kawas C. Projections of Alzheimer's disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. *Am J Public Health.* 1998; 88: 1.337-42.
- Carrillo-Alcalá ME, Bermejo-Pareja F. Demencia en nonagenarios. Revisión sistemática de estudios poblacionales con datos de España. *Rev Neurol.* 2008; 47:347-54.
- Cederholm T, Palmblad J. Are omega-3 fatty acids options for prevention and treatment of cognitive decline and dementia?. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010; 13:150-5.
- Coley N, Andrieu S, Gardette V, Gillette-Guyonnet S, Sanz C, Vellas B, et al. Dementia Prevention: Methodological Explanations for Inconsistent Results. *Epidemiol Rev.* 2008; 30:35-66.
- Dangour AD, Whitehouse PJ, Rafferty K, Mitchell SA, Smith L, Hawkesworth S, et al. B-Vitamins and Fatty Acids in the Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease and Dementia: A Systematic Review. *J Alzheimers Dis* 2010; PMID: 20847412.
- Daviglus ML, Bell CC, Berrettini W, Bowen PE, Connolly S, Cox NJ, et al. National Institutes of Health State-of-the-Science Conference Statement: Preventing Alzheimer Disease and Cognitive Decline. *Ann Intern Med.* 2010; 153:176-81.
- De Pedro Cuesta J, Virués Ortega J, Vega S, Seijo Martínez M, Saz P, Rodríguez F, et al. Prevalence of dementia and major dementia subtypes in Spanish populations: A reanalysis of dementia prevalence surveys, 1990-2008. *BMC Neurology.* 2009; 9:55.
- De Ronchi D, Fratiglioni L, Rucci P, Paternico A, Graziani S, Dalmonte E. The effect of education on dementia occurrence in an Italian population with middle to high socioeconomic status. *Neurology.* 1998; 50:1.231-8.
- Donaldson C, Burns A. Burden of Alzheimer's disease: helping the patient and caregiver. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 1999; 12:21-8.
- Féart C, Samieri C, Rondeau V, Amieva H, Portet F, Dartigues JF, et al. Adherence to a Mediterranean diet, cognitive decline, and risk of dementia. *JAMA.* 2009; 302:638-48.
- Fratiglioni L, Launer LJ, Andersen K, Breteler MM, Copeland JR, Dartigues JF, et al. Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. Neurology.* 2000; 54: S10-15.
- Fratiglioni L, Paillard-Borg S, Winblad B. An active and socially integrated lifestyle in late life might protect against dementia. *Lancet Neurol.* 2004; 3:343-53.
- Fratiglioni L, Wang HX, Ericsson K, Maytan M, Winblad B. Influence of social network on occurrence of dementia: a community-based longitudinal study. *Lancet.* 2000; 355:1.315-9.
- Friedland RP. Fish consumption and the risk of Alzheimer disease. Is it time to make dietary recommendations? *Arch Neurol.* 2003; 60:923-4.
- Frisardi V, Panza F, Seripa D, Imbimbo BP, Vendemiale G, Pilotto A, et al. Nutraceutical Properties of Mediterranean Diet and Cognitive Decline: Possible Underlying Mechanisms. *J Alzheimer Dis.* 2010; PMID: 20858954.
- Fusco D, Colloca G, Lo Monaco MR, Cesari M. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Intervent Aging.* 2007; 2:377-87.

- García AM, Ramón-Bou N, Porta M. Isolated and joint effects of tobacco and alcohol consumption on risk of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2010; 20:577-86.
- García Closas R. Nutrición y enfermedad de Alzheimer. *Alzheimer.* 2010; 46:24-36.
- Garibotto V, Borroni B, Kalbe E, Herholz K, Salmon E, Holtoff V, et al. Education and occupation as proxies for reserve in aMCI converters and AD. FDG-PET evidence. *Neurology.* 2008; 71:1.342-9.
- Gatz M, Prescott CA, Pedersen NL. Lifestyle Risk and Delaying Factors. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2006; 20:S84-8.
- Gatz M, Mortimer J, Fratiglioni L, Johansson B, Berg S, Andel R, et al. Accounting for the relationship between low education and dementia: a twin study. *Physiol Behav.* 2007; 92:232-7.
- Geldmacher DS, Farlow M. Alzheimer disease. In: Gilman S, editor-in-chief. *Medlink Neurology.* San Diego: Medlink Corporation. Available at [www.medlink.com](http://www.medlink.com). Accessed: 16-September-2010.
- Green S, Kaye J, Ball M. 2000. The Oregon brain ageing study: neuropathology accompanying healthy ageing in the oldest old. *Neurology.* 2000; 54:105-21.
- Grodstein F. Cardiovascular risk factors and cognitive function. *Alzheimer Dementia.* 2007; 3(Suppl. 2):16-22.
- Gu Y, Nieves JW, Stern Y, Luchsinger JA, Scarmeas N. Food Combination and Alzheimer Disease Risk. A Protective Diet. *Arch Neurol.* 2010a; 67:699-706.
- Gu Y, Luchsinger JA, Stern Y, Scarmeas N. Mediterranean Diet, Inflammatory and Metabolic Biomarkers, and Risk of Alzheimer's Disease. *J Alzheimer Dis.* 2010b; PMID: 20847399.
- Hughes TF, Ganguli M. Modifiable midlife risk factors for cognitive impairment and dementia in late life. *Curr Psychiatry Rev.* 2009; 5:73-92.
- Hughes TF, Ganguli M. Factores de riesgo de demencia en la vejez modificables en las etapas medias de la vida. *Rev Neurol.* 2010; 51: 259-62.
- Jicha GA, Markesbery WR. Omega-3 fatty acids: potential role in the management of early Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging.* 2010; 5:45-61.
- Kang JH, Cook N, Manson J, Buring JE, Grodstein F. A randomized trial of vitamin E supplementation and cognitive function in women. *Arch Intern Med.* 2006; 166: 2.462-8.
- Katzman R. Education and the prevalence of dementia and Alzheimer's disease. *Neurology.* 1993; 43:13-20.
- Kawas HC. Medications and Diet. Protective Factors for AD? *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2006; 20(Suppl. 2):89-96.
- Kim JM, Stewart R, Shin IS, Kim SW, YangSJ, Yoon JS. Associations between head circumference, leg length and dementia in a Korean population. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2008; 23:41-8.
- Launer LJ, Andersen K, Dewy ME, Letenneur L, Ott A, Amaducci LA, et al. Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease. *Neurology.* 1999; 52:78-84.
- Laurin D, Verreault R, Lindsay J, MacPherson K, Rockwood K. Physical Activity and Risk of Cognitive Impairment and Dementia in Elderly Persons. *Arch Neurol.* 2001; 58:498-504.
- Lautenschlager NT, Cox KL, Flicker L, Foster JK, Van Bockxmeer FM, Xiao J, et al. Effect of physical activity on cognitive function in older adults at risk for Alzheimer Disease: A Randomized Trial. *JAMA.* 2008; 300:1.027-37.
- Lim WS, Gammack JK, Van NJ, Dangour AD. Omega 3 fatty acid for the prevention of dementia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006; 1. Art. No.: CD005379.
- Loscalzo J, Kohane I, Barabasi AL. Human disease classification in the postgenomic era: A complex systems approach to human pathobiology. *Mol Systems Biol.* 2007; 3:124.
- Luchsinger JA, Mayeux R. Dietary factors and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2004; 3:579-87.
- Luchsinger JA, Tang MX, Shea S, Mayeux R. Antioxidant vitamin intake and risk of

- Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2003; 60:203-8.
- Lustig C, Buckner R. Preserved neural correlates of priming in old age and dementia. *Neuron.* 2004; 42:865-75.
- Lytle ME, Bilt JV, Pandav RS, Dodge HH, Ganguli M. Exercise Level and Cognitive Decline. The MoVIES Project. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2004; 18:57-64.
- Malouf R, Grimley Evans J. Folic acid with or without vitamin B12 for the prevention and treatment of healthy elderly and demented people (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2008; 4. Art. No.: CD004514.
- McDonald RJ, Craig LA, Hong NS. The etiology of age-related dementia is more complicated than we think. *Behav Brain Res.* 2010; 214:3-11.
- McDowell I. Alzheimer's disease: Insights from epidemiology. *Aging Clin Exp Res.* 2001; 13:143-62.
- Menec VH. The relation between everyday activities and successful aging: a 6-year longitudinal study. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci.* 2003; 58(Suppl. 1):74-82.
- Miller ER III, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis: High-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med.* 2005; 142:37-46.
- Morris JC. Dementia update 2005. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2005; 19:100-17.
- Mortimer JA, Snowdon DA, Markesbery WR. Head circumference, education and risk of dementia: findings from the Nun Study. *J Clin Exp Neuropsychol.* 2003; 25:671-9.
- National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). Dementia. The NICE-SCIE guideline on supporting people with dementia and their carers in health and social care. National Clinical Practice Guideline Number 42. London (United Kingdom): National Collaborating Centre for Mental Health. Social Care Institute for Excellence, NICE. 2007.
- Ngandu T, von Strauss E, Helkala EL, Winblad B, Nissinen A, Tuomilehto J, et al. Education and dementia: what lies behind the association? *Neurology.* 2007; 69:1.442-50.
- Olazarán J, Muñiz R, Reisberg B, Peña-Casanova J, Del Ser T, Cruz-Jentoft J, et al. Benefits of cognitive-motor intervention in MCI and mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology.* 2004; 63:2.348-53.
- Olesen J, Leonardi M. The burden of brain diseases in Europe. *Eur J Neurol.* 2003; 10:471-47.
- Ownby RL, Crocco E, Acevedo A, John V, Loewenstein D. Depression and risk for Alzheimer disease: systematic review, meta-analysis, and meta-regression analysis. *Arch Gen Psychiatry.* 2006; 63:530-8.
- Panza F, Capurso C, D'Introno A, Colacicco AM, Frisardi V, Lorusso M, et al. Alcohol drinking, cognitive functions in older age, pre-dementia, and dementia syndromes. *J Alzheimers Dis.* 2009; 17:7-31.
- Patterson C, Feightner J, Garcia A, MacKnight C. General risk factors for dementia: A systematic evidence review. *Alzheimer Dement.* 2007; 3:341-7.
- Patterson C, Feightner J, Garcia A, GY Robin Hsiung, MacKnight C, Sadovnik AD. Diagnosis and treatment of dementia: 1. Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease. *CMAJ.* 2008; 178:548-56.
- Peters R. The prevention of dementia. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2009; 24:452-8.
- Peters R, Peters J, Warner J, Beckett N, Bulpitt C. Alcohol, dementia and cognitive decline in the elderly. A systematic review. *Age Ageing.* 2008; 37:505-12.
- Petersen RC, Thomas RG, Grundman M, Bennett D, Doody R, Ferris S, et al. Vitamin E and Donepezil for the Treatment of Mild Cognitive Impairment. *N Engl J Med.* 2005; 352:2.379-88.
- Plassman BL, Williams JW Jr, Burke JR, Holsinger T, Benjamin S. Systematic review: factors associated with risk for and possible prevention of cognitive decline in later life. *Ann Intern Med.* 2010; 153:182-93.
- Qiu C, Xu W, Fratiglioni L. Vascular and psychosocial factors in Alzheimer's disease: epi-

- demiological evidence toward intervention. *J Alzheimers Dis.* 2010; 20:689-97.
- Ramesh BN, Rao TSS, Prakasam A, Sambamurti K, Rao KSJ. Neuronutrition and Alzheimer's disease. *J Alzheimer Dis.* 2010; 19:1.123-39.
- Rovio S, Kåreholt I, Helkala EL, Viitanen M, Winblad W, Tuomilehto J, et al. Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2005; 4:705-11.
- Sachs-Ericsson N, Blazer DG. Racial Differences in Cognitive Decline in a Sample of Community-Dwelling Older adults. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2005; 13:968-75.
- Sando SB, Melquist S, Cannon A, Hutton M, Sletvold O, Saltvedt I, et al. Risk-reducing effect of education in Alzheimer's Disease. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2008; 23:1.156-62.
- Sano M, Ernesto C, Thomas RG, Klauber MR, Schafer K, Grundman M, et al. A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 1997; 336:1.216-22.
- Scarmeas N, Levy G, Tang MX, Manly J, Stern Y. Influence of leisure activity on the incidence of Alzheimer's disease. *Neurology.* 2001; 57:2.236-42.
- Scarmeas N, Stern Y, Tang MX, Mayeux R, Luchsinger JA. Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 2006; 59:912-21.
- Scarmeas N, Luchsinger JA, Mayeux R, Stern Y. Mediterranean diet and Alzheimer disease mortality. *Neurology.* 2007; 69:1.084-93.
- Scarmeas N, Luchsinger JA, Schupf N, Brickman AM, Cosentino S, Tang MX, et al. Physical Activity, Diet, and Risk of Alzheimer Disease. *JAMA.* 2009a; 302:627-37.
- Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R, Manly JJ, Schupf N, Luchsinger JA. Mediterranean diet and mild cognitive impairment. *Arch Neurol.* 2009b; 66:216-25.
- Shenkin S, Bastin M, MacGillivray T, Deary IJ, Starr JM, Wardlaw JM. Childhood and current cognitive function in healthy 80-year-olds. a DT-MRI study. *Neuroreport.* 2003, 14: 345-9.
- Sitzer DI, Twamley EW, Jeste DV. Cognitive training in Alzheimer's disease: a meta-analysis of the literature. *Acta Psychiatr Scand.* 2006; 114:75-90.
- Smith PJ, Blumenthal JA. Diet and neurocognition: review of evidence and methodological considerations. *Curr Aging Sci.* 2010; 3: 57-66.
- Sofi F, Macchi C, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Effectiveness of the Mediterranean diet: can it help delay or prevent Alzheimer's disease?. *J Alzheimer Dis.* 2010; 20:795-801.
- Stern C, Munn Z. Cognitive leisure activities and their role in preventing dementia: a systematic review. *Int J Evid Based Healthc.* 2010; 8:2-17.
- Sturman MT, Morris MC, Mendes de Leon CF, Bienias JL, Wilson RS, Evans DA. Physical Activity, Cognitive Activity, and Cognitive Decline in a Biracial Community Population. *Arch Neurol.* 2005; 62:1.750-4.
- Tschanz JT, Corcoran C, Skoog I, Khachaturian AS, Herrick J, Hayden KM, et al. Dementia: The leading predictor of death in a defined elderly population. The Cache County Study. *Neurology.* 2004; 62:1.156-62.
- Valenzuela MJ, Sachdev P. Brain reserve and dementia: a systematic review. *Psychological Med.* 2006; 36:441-54.
- Van Duijn CM, Stijnen T, Hofman A. Risk factors for Alzheimer's disease: overview of the EURODEM collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol.* 1991; 20(Suppl. 2):4-12.
- Van de Rest O, Geleijnse JM, Kok FJ, van Staveren WA, Dullemeijer C, Olerikert MG, et al. Effect of fish oil on cognitive performance in older subjects: a randomized, controlled trial. *Neurology.* 2008; 71:430-8.
- Van Gelder BM, Tijhuis MAR, Kalmijn S, Giampaoli S, Nissinen A, Kromhout D. Physical activity in relation to cognitive decline in elderly men. The FINE Study. *Neurology.* 2004; 63:2.316-21.
- Vergheze J, Lipton RB, Katz MJ, Hall CB, Derby CA, Kuslansky G, et al. Leisure activi-

ties and the risk of dementia in the elderly. *N Engl J Med.* 2003; 348:2.508-16.

Wancata J, Musalek M, Alexandrowicz R, Krautgartner M. Number of dementia sufferers in Europe between the years 2000 and 2050. *Eur Psychiatry.* 2003; 18:306-13.

Wang JYJ, Zhou DHD, Li J, Zhang M, Deng J, Tang M, et al. Leisure activity and risk of cognitive impairment: The Chongqing aging study. *Neurology.* 2006; 66:911-3.

Weuve J, Kang JH, Manson JE, Berteler MMB, Ware JH, Grodstein F. Physical Activity, Including Walking, and Cognitive Function in Older Women. *JAMA.* 2004; 292:1.454-61.

Wilson RS, Bennett DA, Bienias JL, Aggarwal NT, Mendes de Leon CF, Morris MC et al. Cognitive activity and incident AD in a popu-

lation-based sample of older persons. *Neurology.* 2002; 59:1.910-4.

Wilson RS, Scherr PA, Schneider JA, Tang Y, Bennett DA. Relation of cognitive activity to risk of developing Alzheimer disease. *Neurology.* 2007; 69:1.911-20.

Wimo A, Winblad B, Jönsson L. The worldwide societal costs of dementia: Estimates for 2009. *Alzheimer Dementia.* 2010; 6:98-103.

Zandi PP, Anthony JC, Khachaturian AS, Stone SV, Gustafson D, Tschanz JT, et al. Reduced risk of Alzheimer disease in users of antioxidant vitamin supplements. *Arch Neurol.* 2004; 61:82-8.

Zavaloni Scalco M, Van Reekum R. Prevention of Alzheimer disease. Encouraging evidence. *Can Fam Physician.* 2006; 52:200-7.



**REAL ACADEMIA  
NACIONAL DE  
FARMACIA**



ISBN 978-847867063-5



9 788478 670635