

Artículo Original

Marcadores inflamatorios en pacientes con síndrome metabólico después de consumir ácidos grasos omega-3 y ácido linoleico conjugado (CLA)

Inflammatory markers in patients with metabolic syndrome after the intake of fatty acids n-3 and conjugated linoleic acid (CLA)

Campos Mondragón, M. G.^{1,2}; Oliart Ros, R. M.¹; Angulo Guerrero, J. O.¹

¹ Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz.

² Facultad de Nutrición Campus Veracruz, Universidad Veracruzana.

RESUMEN

Introducción: El síndrome metabólico (SM) aumenta la probabilidad de morir por enfermedad cardiovascular, causa número uno de mortalidad mundial. Los ácidos grasos poliinsaturados han evidenciado un efecto protector tanto en la enfermedad cardiovascular como en sus comorbilidades.

Objetivo: Evaluar el efecto de tres tipos de ácidos grasos poliinsaturados sobre la inflamación crónica del SM.

Métodos: El grupo de estudio se formó con 45 adultos con diagnóstico de SM según la IDF. Cada grupo de tratamiento se asignó cuasi-aleatoriamente a 15 de los participantes durante seis semanas: a) 1.8 g/d n-3 (1.08 g eicosapentaenoico EPA + 0.72 g docosahexaenoico DHA), b) 2.0 g/d ácido linoleico conjugado CLA, (en relación 50:50 de los isómeros cis9:trans11, trans10:cis12), y c) 40 g/d nuez de castilla *Juglans regia*. Los resultados se compararon en cada grupo mediante la prueba de t-Student con un valor de significación estadística $p < 0.01$.

Resultados: En el grupo que consumió n-3, disminuyó significativamente el nivel de IL-6 (de 9.81 ± 1.28 a 8.47 ± 0.81 pg/ml, $p=0.002$), leptina (de 25.94 ± 5.06 ng/ml a 20.53 ± 3.96 ng/ml, $p=0.003$) y homocisteína (de 18.80 ± 1.95 a 16.72 ± 1.99 μ mol/l, $p=0.007$), en los eritrocitos disminuyó el porcentaje de ácido α -linoléico (de 1.90 ± 0.77 a 1.26 ± 0.17 %, $p=0.004$) y la relación n6/n3 (de 4.48 ± 1.06 a 3.11 ± 0.60 , $p=0.000$), mientras que aumentó el porcentaje de ácidos EPA (de 1.13 ± 0.45 a 1.58 ± 0.42 %, $p=0.009$) y DHA (de 2.61 ± 0.36 a 4.64 ± 0.91 %, $p=0.000$). En el grupo que consumió nuez de castilla disminuyeron las concentraciones de TNF- α (de 8.75 ± 2.06 pg/ml a 6.68 ± 0.97 pg/ml, $p=0.002$) e IL-6 (de 10.61 ± 1.45 a 8.72 ± 0.79 pg/ml, $p=0.000$) y en los eritrocitos aumentó el porcentaje de ácido α -linoléico (de 1.86 ± 0.65 a 2.62 ± 0.72 %, $p=0.005$). En el grupo que consumió CLA disminuyó la homocisteína (de 18.01 ± 2.65 a 15.34 ± 2.26 μ mol/l, $p=0.006$).

Conclusiones: Los grupos que recibieron ácidos grasos n-3, tanto en suplementos (EPA/DHA) como en nuez de castilla evidenciaron una modificación en la composición de ácidos grasos en los eritrocitos lo que podría estar asociado a la disminución del estado pro inflamatorio. En el grupo que consumió CLA el nivel de homocisteína disminuyó sin cambio en los demás marcadores ni en los ácidos grasos eritrocitarios.

PALABRAS CLAVE

Eritrocitos, ácidos grasos, inflamación.

Correspondencia:

Martha G. Campos Mondragón
Facultad de Nutrición Campus Veracruz, Universidad Veracruzana
Iturbide s/n esq. Carmen Serdán. Col. Ignacio Zaragoza
Veracruz, Veracruz, México. Tel/Fax Ofna: (01229) 9312003
marcampos@uv.mx, marthasigue@yahoo.com.mx

ABSTRACT

Introduction: The metabolic syndrome (MS) increases the odds of dying for cardiovascular disease, the world's leading cause of death. It has been shown that polyunsaturated fatty acids have a protective role in cardiovascular disease and its comorbidities.

Objective: To assess the effect of three kinds of polyunsaturated fatty acids on the chronic inflammation in MS.

Methods: The study group was 45 adults with MS diagnose according to IDF criteria. Each group of treatment was assigned cuasi-randomly to 15 subjects during six weeks: a) 1.8 g/d n-3 (1.08 g eicosapentaenoic acid EPA + 0.72 g docosahexaenoic acid DHA), b) 2.0 g/d conjugated linoleic acid (CLA, 50:50, cis9:trans11, trans10:cis12), c) 40 g/d walnut *Juglans regia*. The results at the beginning and the end of the essay were compared in each group, using the t-Student test and $p < 0.01$ as statistical signification value.

Results: In the patients supplemented with n-3 fatty acids, significantly decreased the level of IL-6 (from 9.81 ± 1.28 to 8.47 ± 0.81 pg/ml, $p=0.002$), leptin (from 25.94 ± 5.06 ng/ml to 20.53 ± 3.96 ng/ml, $p=0.003$) and homocysteine (from 18.80 ± 1.95 to 16.72 ± 1.99 μ mol/l, $p=0.007$), in erythrocytes decreased the percentage α -linolenic content (from 1.90 ± 0.77 to 1.26 ± 0.17 %, $p=0.004$) and the n6/n3 rate (from 4.48 ± 1.06 to 3.11 ± 0.60 , $p=0.000$), while increased the percentage of EPA (from 1.13 ± 0.45 to 1.58 ± 0.42 %, $p=0.009$) and DHA (from 2.61 ± 0.36 to 4.64 ± 0.91 %, $p=0.000$). In the group that consumed walnut declined the levels of TNF- α (from 8.75 ± 2.06 pg/ml to 6.68 ± 0.97 pg/ml, $p=0.002$) and IL-6 (from 10.61 ± 1.45 to 8.72 ± 0.79 pg/ml, $p=0.000$), in erythrocytes increased the α -linolenic content (from 1.86 ± 0.65 to 2.62 ± 0.72 %, $p=0.005$). In the group that consumed CLA decreased the level of homocysteine (from 18.01 ± 2.65 to 15.34 ± 2.26 μ mol/l, $p=0.006$).

Conclusions: The groups that consumed n-3 fatty acids in supplements (EPA/DHA) and in walnut, became evident the modification in the erythrocyte fatty acids content, which could be associated to the reduction of pro inflammatory state. In the group that consumed CLA the homocysteine level decreased without changes in the other markers or erythrocyte fatty acids.

KEY WORDS

Erythrocytes, fatty acids, inflammation.

INTRODUCCIÓN

El Síndrome Metabólico (SM) es un conjunto de factores de riesgo asociados entre sí, que incrementan la mortalidad coronaria y cardiovascular (1). El balance de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta, parece tener un efecto protector ante el proceso inflamatorio del SM. La inclusión de granos enteros, verduras, frutas, pescado y aceite de oliva en sujetos con obesidad y diabetes incrementó el nivel de adiponectina (2). La inclusión de la dieta mediterránea en pacientes con SM redujo la concentración de citoquinas y mejoró la función endotelial (3).

Cuando los individuos se vuelven obesos y sus adipocitos se alargan, el tejido adiposo experimenta alteraciones celulares y moleculares que substancialmente afectan el metabolismo sistémico. Primero, los macrófagos se acumulan en el tejido adiposo desencadenando la inflamación local y la producción de diversos citoquinas pro inflamatorias, tales como el factor de necrosis tumoral (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6). La grasa visceral secreta más citoquinas que el tejido adiposo subcutáneo, y los macrófagos del tejido adiposo visceral expresan y liberan citoquinas que pueden alcanzar el hígado a través de la circulación portal, donde estimulan la inflamación hepática e inducen la respuesta inflamatoria sistémica crónica (4). La resistencia a la insulina (RI) presente en el SM, es por sí misma un estado pro inflamatorio que genera niveles elevados de marcadores inflamatorios (5). En modelos con inflamación, el TNF- α ha mostrado ser importante en la sobre-regulación de moléculas de adhesión, que son críticas en la extravasación de monocitos, esto mediado por la vía de factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF κ B), por lo que se relaciona también con el proceso de disfunción endotelial (6). La leptina, que en la obesidad se encuentra incrementada por la resistencia a la leptina, también juega un rol en el desarrollo de la inflamación, pues es pro inflamatoria, incrementa la activación de células T, la activación de macrófagos y aumenta la liberación de TNF- α e IL-6 (7). En los cambios fisiopatológicos renales del SM, la inflamación crónica se asocia con el nivel elevado de leptina, la cual en la obesidad incrementa la actividad simpática a través de su acción en el hipotálamo y eleva la presión arterial. Así también, se ha reportado que el nivel aumentado de TNF- α promueve la generación de especies reactivas al oxígeno (ROS) en las células glomerulares y las células tubulares proximales. Las ROS contribuyen al deterioro renal al inducir

disfunción endotelial renal y microalbuminuria, expansión mesangial y fibrosis (8).

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-6 y n-3 se almacenan preferentemente en los fosfolípidos incorporándose así a las membranas celulares (9). La habilidad de los ácidos grasos n-3 de interferir con el ácido araquidónico es uno de los mecanismos propuestos con efecto antiinflamatorio al funcionar como precursores de eicosanoides (10). Así también, se ha evidenciado su efecto en la reducción de marcadores pro inflamatorios (11, 12). Por otro lado, la ingesta de nuez *Juglans regia*, se asocia a un efecto cardioprotector, el cual se atribuye a su composición en mayor parte lípidos poliinsaturados, destacando como fuente principal de ácido α -linolénico n-3 (9 %). La mayor frecuencia en el consumo de nueces (nueces, semillas, cacahuete y mantequilla de cacahuete) ha demostrado reducir los niveles de los marcadores de inflamación: proteína C reactiva (CRP), IL-6 y fibrinógeno (13). El término ácido linoleico conjugado o CLA describe a un grupo de isómeros conjugados del ácido linoleico. Son dos los isómeros con actividad biológica más conocida: *cis*-9,*trans*-11 y *trans*-10,*cis*-12. Se ha evidenciado que su consumo reduce el porcentaje de masa grasa corporal (15) y el nivel de TNF- α (15).

OBJETIVOS

Evaluar el efecto de tres fuentes de ácidos grasos poliinsaturados (suplementos n-3, nuez de castilla, suplementos de CLA) sobre el proceso de inflamación crónica del SM.

MATERIALES Y MÉTODOS

Grupo de estudio

El estudio se realizó con una muestra de pacientes del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), de la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) No 14 Centro Médico Nacional (CMN) "Adolfo Ruiz Cortines" en Veracruz, México. Previo consentimiento informado se diagnosticó síndrome metabólico de acuerdo a la definición de la Federación Internacional de Diabetes (IDF), con obesidad central como imprescindible (perímetro de cintura >80 cm en varones o >90 cm en mujeres); más dos de los cuatro siguientes: hipertrigliceridemia (≥ 150 mg/dl triglicéridos en ayunas), disminución de HDL (<40 mg/dl en varones o <50 mg/dl en mujeres), hipertensión arterial (≥ 135 y/o 85 mmHg o tratamiento antihipertensivo actual), glucemia basal

(>100 mg/dl o diagnóstico de diabetes tipo 2). Se llevó a cabo un ensayo clínico en 45 participantes.

Intervención

Los pacientes con SM siguieron un periodo de pre-inclusión que incluyó las recomendaciones de alimentación de la Asociación Americana del Corazón para la prevención de las enfermedades cardiovasculares (16) durante cuatro semanas, dichas recomendaciones se continuaron durante el periodo de intervención. El estudio fue aprobado por el comité de ética del Hospital y se desarrolló conforme a los lineamientos de la Ley de Helsinki (17).

Cada grupo de tratamiento se asignó cuasi-aleatoriamente a 15 de los participantes durante seis semanas: a) 1.8 g/d n-3 (1.08 g eicosapentaenoico EPA + 0.72 g docosahexaenoico DHA), b) 2.0 g/d ácido linoleico conjugado CLA, (en relación 50:50 de los isómeros *cis*9:*trans*11, *trans*10:*cis*12), y c) 40 g/d nuez de castilla *Juglans regia*.

La adherencia al tratamiento se verificó cada dos semanas mediante el recuento de cápsulas no consumidas en el caso de suplementos de n-3 y CLA y recuento de paquetes de nuez de castilla. Los marcadores pro inflamatorios y la composición de ácidos grasos de eritrocitos fueron evaluados al inicio y al final del periodo de intervención.

Análisis de marcadores proinflamatorios

En condiciones de ayuno de 12 horas se recolectaron 100 ml de la primera orina de la mañana, para determinar la concentración de microalbuminuria y creatinina urinaria mediante un equipo clinitek 100. Se obtuvo una muestra de sangre por punción venosa en cada paciente y se separó el suero por centrifugación a 3000 rpm durante 15 min para determinar la concentración de los siguientes marcadores: alanina aminotransferasa (ALT) en un sistema Advia 1200 (Bayer HealthCare), ferritina sérica mediante turbidimetría en un equipo Vitalab 100 Spinlab, proteína C reactiva (CRP) por turbidimetría en un equipo Vitalab 100 Spinlab, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) mediante un kit para ensayo de ELISA de Thermo Scientific (EH3TNFA), interleucina 6 (IL-6) mediante un kit para ensayo ELISA de Thermo Scientific (EH2IL6), leptina mediante un kit para ensayo de ELISA Leptin EIA de ALPCO (11-LEPHU-E01), adiponectina mediante un kit para ensayo de ELISA Adiponectin EIA de ALPCO (44-ADPHU-E02), y homocisteína por medio de un kit de Axis Homocysteine EIA

(FHCY 100). En otra muestra de sangre con citrato de sodio 0.109 M al 3.2 % como anticoagulante se separó el plasma y se analizó la concentración de fibrinógeno mediante el kit para ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas de tipo sandwich de doble anticuerpo (ELISA) de ALPCO (41-FIBHU-E01).

Análisis de composición de ácidos grasos en eritrocitos

La fracción de eritrocitos se lavó con solución de NaCl 0.9 %, junto con la solución se centrifugó a 3000 rpm durante 3 minutos, 4 °C, y se decantó el sobrenadante, cada muestra se lavó tres veces. Los eritrocitos lavados se almacenaron a -70 °C para su posterior análisis. La extracción de lípidos se llevó a cabo mediante el método de Folch. La metilación de ácidos grasos se realizó con HCl metanol 1 N y la cuantificación de ácidos grasos se realizó por cromatografía de gases. Se utilizó un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard 6C Serie 6890, equipado con una columna capilar Supelco-Wax de 60 m y un detector de ionización de flama, bajo las siguientes condiciones: temperatura de inyección de 240 °C, temperatura del detector de 250 °C. El método comienza a 190 °C se mantiene a esa temperatura 2 minutos; posteriormente aumenta 4 °C/min hasta 210 °C y se mantiene así 5 minutos, finalmente aumenta a 230 °C a una velocidad de 2 °C/min y se mantiene 25 minutos para las muestras con EPA y DHA; y para las muestras de nuez y CLA se mantuvo a 230 °C por 5 minutos. Se empleó nitrógeno como gas acarreador.

Análisis estadístico

Se compararon los resultados en los marcadores analizados antes y al final del periodo de intervención en cada grupo mediante la prueba de t-Student y se consideró como valor de significación estadística $p < 0.01$. El análisis de los datos se realizó mediante el programa estadístico Minitab, Inc. Release 10.2, Copyright, 1994.

RESULTADOS

De los 45 participantes con SM, 38 fueron mujeres y 7 hombres con una edad 45.8 ± 13.5 años. El apego al tratamiento promedio en cada grupo fue de: 99.8% ± 0.4 (n-3), 99.4% ± 1.1 (CLA), y 99.5% ± 1.3 (Nuez).

En los parámetros de desregulación vascular se evaluó frecuencia cardiaca (FC), microalbuminuria y creatinina urinaria. Sus valores se encontraron en el rango normal en la población de estudio al inicio del ensayo y

después de la suplementación no se observó cambio significativo con ningún tratamiento, como se muestra en la Tabla 1.

En función de los niveles plasmáticos de homocisteína (Hcys) se considera hiperhomocisteinemia moderada valores de 16 a 20 $\mu\text{mol/litro}$, intermedia de 31 a 100 $\mu\text{mol/l}$ y severa mayor de 100 $\mu\text{mol/l}$ (18). El nivel de Hcys disminuyó significativamente en el grupo que recibió n-3 (de 18.80 ± 1.95 a 16.72 ± 1.99 $\mu\text{mol/l}$, $p=0.007$) y en el grupo que consumió CLA (de 18.01 ± 2.65 a 15.34 ± 2.26 $\mu\text{mol/l}$, $p=0.006$).

De acuerdo a la Tabla 1, en cada grupo de tratamiento, los valores de TNF- α , IL-6 y leptina al inicio de la intervención, superaron los rangos considerados normales en adultos: TNF- α 2.5-3.7 pg/ml, IL-6 1.8-3.2 pg/ml, leptina en hombres delgados: 3.7-11.1 ng/ml, en mujeres delgadas: 2.0-5.6 ng/ml. De tal manera, la población que participó en el ensayo clínico fue un modelo de inflamación crónica. La concentración de TNF- α se redujo significativamente en el grupo que recibió nuez de castilla (de 8.75 ± 2.06 pg/ml a 6.68 ± 0.97 pg/ml, $p=0.002$), y la concentración sérica de IL-6 se redujo significativamente en los grupos suplementados con nuez de castilla y con n-3, de 10.61 ± 1.45 a 8.72 ± 0.79 pg/ml ($p=0.000$) y de 9.81 ± 1.28 a 8.47 ± 0.81 pg/ml ($p=0.002$), respectivamente. La concentración de leptina disminuyó de 25.94 ± 5.06 ng/ml a 20.53 ± 3.96 ng/ml ($p=0.003$) en el grupo que recibió n-3.

No se observaron diferencias significativas al final del ensayo en ningún grupo en la concentración sérica de ferritina, CRP, fibrinógeno y ALT.

La concentración de ALT Se evaluó como marcador de disfunción hepática debido a que se asocia a esteatosis y RI hepática. Sus valores fueron normales al inicio del estudio y no hubo cambio significativo después de la suplementación. El valor normal de ALT fue indicador de ausencia de acumulación hepática en los sujetos con SM del estudio. Adicional a este marcador se evaluó el nivel de ferritina el cual es un marcador de grasa hepática y RI. En los tres grupos la concentración de ferritina inicial y final fue normal (< 220 en hombres y < 110 en mujeres mg/l) y no se mostraron cambios significativos con los tratamientos.

Se analizó el perfil de ácidos grasos en los eritrocitos y se identificó aquellos que corresponden a los biomarcadores del consumo de los tratamientos probados, nuez de castilla: C18:3 ácido α -linolénico, CLA: *cis9-trans11*, *trans10-cis12*, y n-3: C20:5 EPA y C22:6 DHA.

Tabla 1. Efecto de los tratamientos sobre los marcadores pro inflamatorios.

Parámetro	Tratamiento								
	Media (de)								
	Nuez			CLA			Omega-3		
	A	D	p	A	D	p	A	D	p
FC (lpm)	69.6 (8.2)	64.1 (6.7)	0.055	72.5 (10.0)	70.3 (9.6)	0.532	66.8 (8.8)	65.7 (7.8)	0.728
Microalbuminuria mg/l	18.67 (18.85)	17.33 (20.17)	0.853	15.33 (9.15)	17.33 (18.70)	0.713	12.67 (7.04)	10.0 (0.00)	0.153
Creatinina urinaria mg/dl	143.33 (72.87)	140.00 (80.62)	0.906	120.00 (88.24)	130.00 (72.70)	0.737	140.00 (68.66)	146.67 (71.88)	0.797
Homocisteína μmol /l	16.94 (2.41)	15.08 (2.32)	0.040	18.01 (2.65)	15.34 (2.26)	0.006	18.80 (1.95)	16.72 (1.99)	0.007
Fibrinógeno ng/ml	284.53 (36.46)	263.81 (31.71)	0.108	277.68 (27.76)	254.38 (33.82)	0.049	276.86 (23.67)	259.79 (23.11)	0.055
ALT UI/L	28.47 (17.04)	28.07 (15.94)	0.948	32.2 (20.1)	26.87 (14.45)	0.411	43.73 (27.23)	43.33 (27.54)	0.968
Ferritina μg/L	84.2 (42.48)	77.6 (38.42)	0.659	75.13 (35.54)	64.47 (28.84)	0.366	92.47 (62.88)	78.6 (61.33)	0.546
CRP mg/dl	0.47 (0.36)	0.59 (0.35)	0.376	0.74 (0.51)	0.57 (0.51)	0.366	0.53 (0.29)	0.49 (0.35)	0.725
TNF-α pg/ml	8.75 (2.06)	6.68 (0.97)	0.002	7.70 (2.53)	6.30 (1.35)	0.068	10.08 (2.91)	8.14 (2.45)	0.059
IL-6 pg/ml	10.61 (1.45)	8.72 (0.79)	0.000	11.19 (2.61)	9.28 (1.10)	0.015	9.81 (1.28)	8.47 (0.81)	0.002
Leptina ng/ml	20.88 (7.47)	17.09 (8.07)	0.193	21.99 (5.38)	18.23 (5.78)	0.076	25.94 (5.06)	20.53 (3.96)	0.003
Adiponectina ng/ml	6.18 (2.13)	7.69 (1.31)	0.026	6.41 (1.42)	7.74 (1.60)	0.023	6.28 (1.22)	7.56 (1.31)	0.010

A: antes de la intervención, D: después de la intervención.
p: nivel de significancia obtenido en la prueba t-Student.

En nuestro grupo de estudio, quienes consumieron nuez no mostraron un aumento significativo en el porcentaje de ácido α -linolénico, de 1.86 ± 0.65 a 2.62 ± 0.72 %, $p=0.005$. No se observaron modificaciones en el porcentaje de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, ni en las relaciones n6/n3, ARA/EPA (Tabla 2).

En el grupo que consumió CLA no se observaron modificaciones significativas sobre el porcentaje de isómeros de CLA, ni sobre los demás ácidos grasos en los eritrocitos al final de la intervención (Tabla 3).

En los eritrocitos del grupo que consumió n-3 disminuyó significativamente el porcentaje de ácido α -linolénico (de 1.90 ± 0.77 a 1.26 ± 0.17 %, $p=0.004$) y la relación n6/n3 (de 4.48 ± 1.06 a 3.11 ± 0.60 , $p=0.000$), e incrementó el porcentaje de EPA (de 1.13 ± 0.45 a 1.58 ± 0.42 %, $p=0.009$) y DHA (de 2.61 ± 0.36 a 4.64 ± 0.91 %, $p=0.000$). El desequilibrio que favorece la síntesis de ácido araquidónico (AA) sobre el de EPA, propicia una situación metabólica pro inflamatoria, aunque el nivel de EPA incrementó significativamente, el

Tabla 2. Porcentaje de ácidos grasos en los eritrocitos del grupo que consumió nuez de castilla.

Ácidos Grasos	Antes del Tx		Después del Tx		Valor de p
	media (%)	de	media (%)	de	
Saturados					
C16:0 Palmítico	15.47	3.28	17.35	2.20	0.076
C18:0 Estearico	9.91	2.75	11.92	1.39	0.017
Total	25.38		29.27		
Monoinsaturados					
C16:1n-7 Palmitoleico	1.77	1.03	1.81	0.88	0.898
C18:1n-9 Oleico	27.63	12.71	17.71	7.12	0.013
Total	29.40		19.52		
Poliinsaturados n-6					
C18:2 Linoleico	11.70	2.02	12.61	1.99	0.225
C20:4 Araquidónico	10.30	3.71	12.57	2.36	0.269
Total	22.01		25.18		
Poliinsaturados n-3					
C18:3n-3 a-Linolénico	1.86	0.65	2.62	0.72	0.005
C20:5 EPA	1.39	0.68	1.44	0.28	0.793
Total	3.25		4.06		
n6/n3	8.43	2.49	7.14	1.84	0.119
ARA/EPA	7.99	2.3	8.8	1.07	0.228

p: nivel de significancia obtenido en la prueba t-Student.

porcentaje de AA y la relación AA/EPA no mostró cambios (Tabla 4).

DISCUSIÓN

La disminución de Hcys observada en el grupo que consumió ácidos grasos n-3, se sugiere asociada a la regulación del metabolismo de enzimas involucradas en el metabolismo de Hcys, se ha reportado que el DHA sobre-regula la expresión del RNAm de 5-metil-tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y cistationina-g-liasa (CSE), y sub-regula la expresión del RNAm de metionina adenosiltransferasa (MAT). Así, los ácidos grasos n-3 alteran la velocidad de síntesis de S-adenosilmetionina (SAM) en base a la actividad de de la enzima MAT

significativamente sub-regulada, la resultante disminución de SAM no estimula entonces la producción de S-adenosil-homocisteína (SAH), molécula que se cataliza a Hcys (19). El porcentaje de reducción en el nivel de Hcys fue de -10.8 %, mientras que en estudios con dosis mayores de n-3 esta reducción se ha reportado entre -29 % y -48% (20, 21).

El nivel de Hcys disminuyó significativamente también en el grupo que consumió CLA. Esto contrasta con estudios que probaron más de 4 g/d (22,23), el doble de la dosis de la dosis del presente estudio, en los que fue evidente el deterioro de la función endotelial al incrementar la peroxidación lipídica y la cantidad de isoprostanos productos de ésta. Así también, el grupo que

Tabla 3. Porcentaje de ácidos grasos en los eritrocitos del grupo que consumió CLA.

Ácidos Grasos	Antes del Tx		Después del Tx		Valor de p
	media (%)	de	media (%)	de	
Saturados					
C16:0 Palmítico	13.53	3.78	14.03	1.71	0.641
C18:0 Esteárico	8.56	3.48	8.99	1.63	0.672
Total	22.09		23.01		
Monoinsaturados					
C16:1n-7 Palmitoleico	2.65	1.17	3.20	1.19	0.212
C18:1n-9 Oleico	36.80	15.93	32.76	8.13	0.389
Total	39.44		35.95		
Poliinsaturados n-6					
C18:2 Linoleico	11.82	1.76	11.53	2.24	0.695
C20:4 Araquidónico	7.92	3.87	8.34	2.23	0.786
Total	19.73		19.86		
Poliinsaturados n-3					
C18:3 a-Linolénico	1.45	0.56	1.87	0.68	0.081
C20:5 EPA	1.27	0.86	1.00	0.49	0.303
Total	2.72		2.87		
n6/n3	10.84	4.95	9.4	3.4	0.364
ARA/EPA	8.01	4.7	11.04	7.69	0.203
CLA					
cis9-trans11	0.59	0.30	0.97	0.62	0.046
trans10-cis12	0.69	0.18	0.85	0.23	0.043
Total	1.28		1.82		

p: nivel de significancia obtenido en la prueba t-Student.

consumió CLA no mostró cambios adversos en la función hepática, lo cual se sugiere por la cantidad del suplemento (2 g/día), pues en otros estudios, dosis mayores han mostrado disfunción. En modelos murinos se ha reportado que las dietas enriquecidas con CLA producen acumulación de lípidos en el hígado (24). En sujetos con sobrepeso la ingesta de dosis altas de CLA (3.4 y 6.8 g/d durante 12 semanas) incrementó el nivel de ALT (25).

En el presente estudio no se mostraron cambios en los marcadores de función hepática en el grupo que consumió n-3, aunque en modelos murinos (26) y humanos (2.7 g EPA/d durante un año) (27) con hígado graso no alcohólico (HGNA) se reportó disminución del nivel de ferritina y ALT por efecto de EPA n-3.

El efecto de reducción del nivel de IL-6, observado en el grupo que consumió nuez de castilla podría relacio-

Tabla 4. Porcentaje de ácidos grasos en los eritrocitos del grupo que consumió n-3 (EPA/DHA).

Ácidos Grasos	Antes del Tx		Después del Tx		Valor de p
	media (%)	de	media (%)	de	
Saturados					
C16:0 Palmítico	14.73	3.84	16.44	3.09	0.191
C18:0 Estearico	9.12	3.54	11.66	1.23	0.014
Total	23.86		28.10		
Monoinsaturados					
C16:1n-7 Palmitoleico	3.10	0.85	3.31	0.43	0.403
C18:1n-9 Oleico	27.27	13.98	19.15	4.18	0.040
Total	30.37		22.47		
Poliinsaturados n-6					
C18:2 Linoleico	11.59	3.27	10.74	1.53	0.364
C20:4 n-6Araquidónico	9.16	4.89	11.15	1.80	0.800
Total	20.76		21.88		
Poliinsaturados n-3					
C18:3n-3 a-Linolénico	1.90	0.77	1.26	0.17	0.004
C20:5n-3 EPA	1.13	0.45	1.58	0.42	0.009
C22:6n-3 DHA	2.61	0.36	4.64	0.91	0.000
Total	5.65		7.48		
n6/n3	4.48	1.06	3.11	0.60	0.000
ARA/EPA	7.77	2.53	7.61	2.48	0.857

p: nivel de significancia obtenido en la prueba t-Student.

narse a su contenido de ácido α -linolénico, cuya ingesta redujo nivel de IL-6 en adultos mayores (28). La reducción de la concentración de TNF- α podría estar relacionado al principal compuesto fenólico de la nuez, el ácido elágico, el cual mostró reducir la expresión de TNF- α en células endoteliales humanas (29), y en células mononucleares de sangre periférica inhibió su proliferación y moduló la producción de citoquinas, reduciendo la concentración de TNF- α (30). La función inmunomoduladora de la nuez de castilla observada en el grupo de estudio en un menor nivel de TNF- α e IL-6 se sugiere como resultado del efecto sinérgico entre sus componentes. La reducción de IL-6 podría asociarse al ácido α -linolénico in-

crementado en las membranas celulares, y la reducción del nivel de TNF- α podría estar relacionada al ácido elágico, principal compuesto fenólico de la nuez.

La reducción de IL-6 por efecto del consumo de n-3 es consistente con reportes previos de correlación inversa entre el consumo de pescado o ácidos grasos n-3 con el nivel de este marcador (31, 32). El efecto supresor del EPA también se ha reportado sobre el nivel de TNF- α en los macrófagos y de IL-6 en los hepatocitos (33).

El nivel de IL-6 no se afectó por la suplementación con CLA, lo cual coincide con lo reportado en hombres sanos (34) y mujeres con post-menopausia (35).

El nivel de leptina disminuyó significativamente en el grupo que consumió n-3, la concentración de esta hormona se redujo $-5.4 \pm 2.7 \%$, se ha sugerido como mecanismo de acción la regulación genética de los ácidos grasos n-3 sobre el receptor de leptina (36).

El carácter inflamatorio del SM tiene repercusiones en la composición de la membrana celular, los individuos con SM tienen mayores concentraciones de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, y menores concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados y *trans* en comparación a aquellos sin el SM (37). La naturaleza de los ácidos grasos que componen las membranas celulares tiene una gran importancia metabólica y funcional. Cuanta mayor proporción de insaturados tengan, mayor plasticidad de la misma, propiedad de la que depende la resistencia a la insulina.

La disminución del nivel sérico de homocisteína en el grupo suplementado con n-3, podría relacionarse también al incremento del porcentaje de DHA en los eritrocitos de los sujetos, diversos estudios respaldan esta observación. Se han reportado correlaciones negativas entre los ácidos grasos n-3 y el nivel de homocisteína (38, 39). Y de modo particular se identificó una asociación inversa entre el porcentaje DHA en los eritrocitos y la concentración de homocisteína en plasma, en población sana, con ECV y hemodiálisis y mujeres con preclampsia (39, 40, 41).

La dieta occidental, principal promotora de enfermedades cardiovasculares e inflamatorias tiene una relación n6/n3 de alrededor de 15:1. En prevención secundaria, una relación n6/n3 4:1 se asocia con la disminución en un 70 % de la mortalidad total, pero en la enfermedad se ha demostrado que este balance requiere ser diferente. En pacientes con cáncer colorrectal una relación 2.5:1 mostró reducir la proliferación celular, mientras que la relación 4:1 no tuvo efecto; así también la relación 2-3:1 suprimió la inflamación en pacientes con artritis reumatoide y una relación 5:1 fue benéfica en pacientes con cáncer. De tal manera, la relación que dará resultados difiere en cada enfermedad crónica, siendo deseable que sea más reducida que en la dieta occidental. En los eritrocitos del grupo que consumió n-3 disminuyó significativamente la relación n6/n3 (de 4.48 ± 1.06 a 3.11 ± 0.60 $p=0.000$)

El desequilibrio que favorece la síntesis de ácido araquidónico (AA) sobre el EPA propicia una situación metabólica proinflamatoria. En el grupo del estudio suplementado con n-3 se aminó la inflamación al disminuir

la concentración de IL-6, sin embargo en los eritrocitos aunque el nivel de EPA incrementó significativamente, el porcentaje de AA y la relación AA/EPA no mostró cambios. El AA sintetiza prostaglandinas de la serie 2, tromboxanos y leucotrienos de la serie 4, entre estos últimos el leucotrieno LTB₄, uno de los principales agentes quimiotácticos para los neutrófilos, que a su vez induce la síntesis de citoquinas inflamatorias. De tal manera, la mejoría en los marcadores inflamatorios puede no aludir a la reducción de eicosanoides derivados del AA, sino a la contribución directa del incremento del EPA a través de la regulación del factor de transcripción receptor activado proliferador de los peroxisomas γ (PPAR γ) (42).

La principal limitación de nuestro estudio fue no disponer de un grupo control que permitiera diferenciar el efecto de otros factores, por lo que no se elimina la posibilidad de que los cambios encontrados pudieran haber sido influidos por factores distintos a la suplementación con fuentes de ácidos grasos poliinsaturados. Con el propósito de reducir lo más posible esta variabilidad, se llevó a cabo el periodo de pre-inclusión en el que los participantes siguieron las mismas recomendaciones de alimentación.

CONCLUSIONES

De los tres tipos de ácidos grasos poliinsaturados estudiados, los de la familia n-3, evidenciaron mayores mejorías en el estado inflamatorio del SM. Los suplementos de n-3 (EPA/DHA) incrementaron el porcentaje de ácidos grasos n-3 de cadena larga, y tales cambios redujeron el balance n6/n3 en los eritrocitos, lo que en conjunto sugiere estar asociados a la disminución de tres importantes marcadores IL-6, leptina y homocisteína. Los ácidos grasos n-3 contenidos en la nuez de castilla incrementaron el porcentaje de ácido α -linoléico en los eritrocitos, lo que podría estar relacionado con la disminución de los marcadores inflamatorios TNF- α e IL-6, además podría ser resultado del efecto sinérgico entre sus componentes. En el grupo que consumió CLA disminuyó el nivel en sangre de homocisteína, sin cambio en los demás marcadores ni en los ácidos grasos eritrocitarios.

BIBLIOGRAFÍA

1. Waine C. The metabolic syndrome: is more than the sum of its parts. *JMHG*. 2005; 2:170-178.
2. Monzillo L, Hamdy O, Horton E, Ledbury S, Mullooly C, Jarema C, Porter S, Ovalle K, Moussa A, Mantzoros C. Effect of lifestyle mo-

- dification on adipokine levels in obese subjects with insulin resistance. *Obes Res.* 2003; 11:1048-1054.
3. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, D'Armiento M, D'Andrea F, Giugliano D. Effect of a Mediterranean-Style Diet on Endothelial Dysfunction and Markers of Vascular Inflammation in the Metabolic Syndrome. *JAMA.* 2004; 292(12):1440-1446.
 4. Wang Z, Nakayama T. Inflammation, a Link between Obesity and Cardiovascular Disease. *Med Inflamm.* 2010;1-17.
 5. Rader D. Effect of insulin resistance, dyslipidemia, and intra-abdominal adiposity on the development of cardiovascular disease and diabetes mellitus. *Am J Med.* 2007; 120:12S-18S.
 6. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor-alpha signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2010; 20(2):87-103.
 7. Singla P, Bardoloi A, Parkash A. Metabolic effects of obesity: A review. *World J Diabetes.* 2010; 15(3):76-88.
 8. Raimundo M, Lopes J. Metabolic Syndrome, Chronic Kidney Disease, and Cardiovascular Disease: A Dynamic and Life-Threatening Triad. *Cardiol Res Pract.* 2011; 16 pages.
 9. Pérez C, Guerrero C. Ácidos grasos en la dieta. *Rev Fac Med Univ Nac Colomb.* 2006; 54(2):134-142.
 10. Brown A, Pang E, Roberts D. Persistent changes in the fatty acid composition of erythrocyte membranes after moderate intake of n-3 polyunsaturated fatty acids: study design implications. *Am J Clin Nutr.* 1991; 54:668-673.
 11. Tanaka N, Sano K, Horiuchi A, Tanaka A, Kiyosawa K, Aoyama T. Highly purified eicosapentaenoic acid treatment improves nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol.* 2008; 42(4):413-418.
 12. García-Ríos A, Meneses M, Pérez-Martínez P, Pérez-Jiménez F. 2009. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria.* 29(1):4-16.
 13. Jiang R, Jacobs D, Mayer-Davis E, Szklo M, Herrington D, Jenny N, Kronmal R, Barr G. Nut and Seed Consumption and Inflammatory Markers in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Epidemiol.* 2006; 163:222-231.
 14. Blankson H, Stakkestad J, Erling H, Wadstein T, Gudmundsen O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J Nutr.* 2000; 130:2943-2948.
 15. Nagao K, Inoue N, Wang Y, Shirouchi B, Yanagita T. Dietary conjugated linoleic acid alleviates nonalcoholic fatty liver disease in Zucker (fa/fa) rats. *J Nutr.* 2005; 135:9-13.
 16. Lichtenstein A, Appel L, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch H, et al. Diet and lifestyle recommendations revision. A scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation.* 2006; 114:82-96.
 17. Declaration of Helsinki. 2008. [consultado 8 abril 2012] Disponible en: <http://www.wma.net/e/ethicsunit/helsinki.htm>
 18. Ueland PM, Refsum H., Brattstrom L. Plasma homocysteine and cardiovascular disease. *Atherosclerotic Cardiovascular disease, homeostasis and endothelial function.* New York, NY: Marcel Dekker Inc. 1992; 183-236.
 19. Huang T, Wahlqvist M, Duo L. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acid on gene expression of the critical enzymes involved in homocysteine metabolism. *Nutr J.* 2012; 11:6.
 20. Olszewski A, McCully K. Fish oil decreases serum homocysteine in hyperlipemic men. *Coron Artery Dis.* 1993; 4(1):53-60.
 21. Zeman M, Zˇa´k A, Vecka M, Tvřzicka´E, P´isarˇ´ikova´A, Stanˇkova B. N-3 fatty acid supplementation decreases plasma homocysteine in diabetic dyslipidemia treated with statin-fibrate combination. *J Nutr Biochem.* 2006; 17:379-384.
 22. Taylor JS, Williams SR, Rhys R, James P, Frenneaux MP. Conjugated linoleic acid impairs endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26:307-312.
 23. Basu S, Riserus U, Turpeinen A, Vessby B. Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in men with abdominal obesity. *Clin Sci.* 2000; 99:511-516.
 24. De Deckere E, van Amelsvoort J, McNeill G, Jones P. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster. *Br J Nutr.* 1999; 82:309-317.
 25. Iwata T, Kamegai T, Yamauchi-Sato Y, Ogawa A, Kasai M, Aoyama T, Kondo K. Safety of dietary conjugated linoleic acid (CLA) in a 12 weeks trial in healthy overweight Japanese male volunteers. *J Oleo Sci.* 2007; 56(10):517-525.
 26. Kajikawa S, Harada T, Kawashima A, Imada K, Mizuguchi K. Suppression of hepatic fat accumulation by highly purified eicosapentaenoic acid prevents the progression of d-galactosamine-induced hepatitis in mice fed with a high-fat/high-sucrose diet. *Biochim Biophys Acta.* 2009; 1791(4):281-288.
 27. Tanaka N, Sano K, Horiuchi A, Tanaka A, Kiyosawa K, Aoyama T. Highly purified eicosapentaenoic acid treatment improves nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol.* 2008; 42(4):413-418.
 28. Cornish S, Chilibeck P. Alpha-linolenic acid supplementation and resistance training in older adults. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2009; 34(1):49-59.
 29. Papoutsis Z, Kassi E, Chinou I, Halabalaki M, Skaltsounis L, Moutsatsou P. Walnut extract (*Juglans regia* L.) and its component ellagic acid exhibit anti-inflammatory activity in human aorta endothelial cells and osteoblastic activity in the cell line KS483. *Br J Nutr.* 2008; 99(4):715-722.
 30. Anderson K, Teuber S. Ellagic acid and polyphenolics present in walnut kernels inhibit in vitro human peripheral blood mononuclear cell proliferation and alter cytokine production. *Ann N Y Acad Sci.* 2010; 1190:86-96.
 31. Nettleton J, Steffen L, Mayer-Davis E, Jenny N, Jiang R, Herrington D, Jacobs D. Dietary patterns are associated with biochemical markers of inflammation and endothelial activation in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Clin Nutr.* 2006; 83:1369-79.
 32. Kalogeropoulos N, Panagiotakos D, Pitsavos C, Chrousos C, Rousinou G, Toutouza M, Stefanadis C. Unsaturated fatty acids are inversely associated and n-6/n-3 ratios are positively related to inflammation and coagulation markers in plasma of apparently healthy adults. *Clin Chim Acta.* 2010; 411:584-591.

33. Hao W, Wong O, Liu X, Lee P, Chen Y, Wong K. ω -3 fatty acids suppress inflammatory cytokine production by macrophages and hepatocytes. *J Pediatr Surg.* 2010; 45(12):2412-2418.
34. Mullen A, Moloney F, Nugent A, Doyle L, Cashman K, Roche H. Conjugated linoleic acid supplementation reduces peripheral blood mononuclear cell interleukin-2 production in healthy middle-aged males. *J Nutr Biochem.* 2007; 18(10):658-666.
35. Tholstrup T, Raff M, Straarup E, Lund P, Basu S, Bruun J. An Oil Mixture with Trans-10, Cis-12 Conjugated Linoleic Acid Increases Markers of Inflammation and in Vivo Lipid Peroxidation Compared with Cis-9, Trans-11 Conjugated Linoleic Acid in Postmenopausal Women. *J Nutr.* 2008; 138:1445-1451.
36. Phillips C, Goumidi L, Bertrais S, Field M, Ordovas J, Cupples A, Defoort C, Lovegrove J, Drevon C, Blaak E, Gibney M, Kiec-Wilk B, Karlstrom B, Lopez-Miranda J, McManus R, Hercberg S, Lairon D, Planells R, Roche H. Leptin Receptor Polymorphisms Interact with Polyunsaturated Fatty Acids to Augment Risk of Insulin Resistance and Metabolic Syndrome in Adults. *J Nutr.* 2010; 140:238-244.
37. Kabagambe EK, Tsai MY, Hopkins PN, Ordovas JM, Peacock JM, Borecki IB, Arnett DK. Erythrocyte fatty acid composition and the metabolic syndrome: a National Heart, Lung, and Blood Institute GOLDN study. *Clin Chem.* 2008; 54(1):154-162.
38. Berstad P, Konstantinova S, Refsum H, Nurk E, Vollset S, Tell G, Ueland P, Drevon C, Ursin G. Dietary fat and plasma total homocysteine concentrations in 2 adult age groups: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr.* 2007; 85:1598 - 1605.
39. Li D, Mann N, Sinclair A. A significant inverse relationship between concentrations of plasma homocysteine and phospholipid docosahexaenoic acid in healthy male subjects. *Lipids.* 2006; 41(1):85-89.
40. Damsgaard C, Frøkiær H, Andersen A, Lauritzen L. Fish Oil in Combination with High or Low Intakes of Linoleic Acid Lowers Plasma Triacylglycerols but Does Not Affect Other Cardiovascular Risk Markers in Healthy Men. *J Nutr.* 2008; 138:1061-1066.
41. Kulkarni A, Mehendale S, Pisal H, Kilari A, Dangat A, Salunkhe S, Taralekar V, Joshi S. Association of omega-3 fatty acids and homocysteine concentrations in pre-eclampsia. *Clin Nutr.* 2010; 30(1):60-64.
42. Magee P, Pearson S, Whittngham-Dowd J, Allen J. PPAR γ as a molecular target of EPA anti-inflammatory activity during TNF- α -impaired skeletal muscle cell differentiation. *J Nutr. Biochem.* 2012; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22305406>.