

Genética, Nutrición y Enfermedad



Genética, Nutrición y Enfermedad

COORDINADORA

M^a Pilar Vaquero

AUTORES

Lluís Arola

Eduardo Arroyo

Isabel Baiges

Marta Bermejo Bermejo

Jordi Boada

Susana Belmonte

María Josep Bellmunt

Ángel Carracedo

Dolores Corella

Sabina Día

Juan Antonio Gómez Gerique

Carlos A. González

Hugo Gonzalo

Emilio Herrera

Mariona Jove

Meritxell Nus

Rosa Moreno Alonso

José María Ordovás

Rosa María Ortega Anta

Amelia Martí

Alfredo Martínez J.

M^a Jesús Moreno-Aliaga

Reinald Pamplona

Manuel Portero-Otín

Olga Portolés

Antonio Salas

Baltasar Ruiz-Roso Calvo de Mora

Francisco J. Sánchez-Muñiz

M^a Pilar Vaquero

Gregorio Varela Moreiras

Carolina Zúñiga Gil

con el patrocinio de





© 2008 **Instituto Tomás Pascual Sanz y Consejo Superior de Investigaciones Científicas**

ISBN: 978-84-00-08662-6 NIPO: 653-08-095-0

Catálogo general de publicaciones oficiales: <http://www.060.es>

Editado por: EDIMSA. Editores Médicos, S.A.

Alsasua, 16. 28023 MADRID.

Depósito legal: M-27131-2008

Reservados todos los derechos.

Esta publicación no puede ser reproducida o transmitida total o parcialmente por cualquier medio, electrónico o mecánico, ni por fotocopia, grabación u otro sistema de reproducción de información sin el permiso por escrito de los titulares del Copyright.

Sumario

Prólogos:	Carlos Martínez Ricardo Martí Fluxá Rafael Rodrigo	7
Presentación:	Mª Pilar Vaquero	15
Conferencia inaugural:	La revolución del genoma humano. ¿Qué significa genómica, epigenética, nutrigenética, nutrigenómica, metabolómica? José María Ordovás Dolores Corella	17
Capítulo 1:	Importancia de la nutrición y hábitos de vida en la prevención. Estrategias de educación nutricional en la Comunidad de Madrid Susana Belmonte	31
Capítulo 2:	Avances en el conocimiento de las bases genéticas de la obesidad Dolores Corella Olga Portolés	51
Capítulo 3:	Resistencia a la insulina: factores desencadenantes Reinald Pamplona Jordi Boada Mariona Jove Hugo Gonzalo Maria Josep Bellmunt Manuel Portero-Otín	67
Capítulo 4:	Avances en la prevención de enfermedades cardiovasculares. Nuevos marcadores bioquímicos Juan Antonio Gómez Gerique	79
Capítulo 5:	Buscando el componente genético de las enfermedades complejas: estudios de asociación Ángel Carracedo Antonio Salas	103
Capítulo 6:	De las ingestas recomendadas a la nutrición personalizada Rosa María Ortega Anta	113
Capítulo 7:	Importancia de la interacción dieta-genética en la prevención cardiovascular Francisco J. Sánchez-Muniz Meritxell Nus	125
Capítulo 8:	Metabolismo del tejido adiposo y sensibilidad insulínica en la gestación Emilio Herrera	145

Sumario (continuación)

Capítulo 9:	Ácido fólico: vitamina <i>versus</i> marcador de riesgo en enfermedad	157
	Gregorio Varela Moreiras	
Capítulo 10:	Ferropenia y otras alteraciones del metabolismo del hierro. Un problema de salud pública y su impacto actual en la población laboral	171
	Marta Bermejo Bermejo Rosa Moreno Alonso Carolina Zúñiga Gil	
Capítulo 11:	Detección de mutaciones y su implicación en estados patológicos del metabolismo del hierro	187
	Eduardo Arroyo M ^a Pilar Vaquero	
Capítulo 12:	Fibra dietética y salud	199
	Baltasar Ruiz-Roso Calvo de Mora	
Capítulo 13:	Factores desencadenantes de la obesidad	209
	J. Alfredo Martínez M. Jesús Moreno-Aliaga Amelia Martí	
Capítulo 14:	Las contribuciones del estudio europeo EPIC al conocimiento de la relación entre nutrición y cáncer	221
	Carlos A. González	
Capítulo 15:	Nutrigenómica y alimentos	235
	Sabina Día Isabel Baiges Lluís Arola	

The background features a complex, abstract design in shades of light blue. It includes a large, stylized spiral or fan-like shape on the right side, composed of many thin, parallel lines radiating from a central point. Overlaid on this are several dark blue circles of varying sizes and thin, intersecting lines that create a sense of depth and movement. The overall aesthetic is modern and architectural.

Prólogos

Prólogo: Carlos Martínez

La relación entre genética, hábitos alimentarios y estado de salud, constituye el hilo conductor de este libro, que recoge la experiencia de un conjunto de investigadores de varias universidades, públicas y privadas, españolas y extranjeras, de hospitales y de organismos públicos de investigación.

El Consejo Superior de Investigaciones Científicas impulsó, durante el año de la Ciencia 2007, iniciativas como ésta, que difícilmente se encuadran en un área o instituto concretos, por su diversidad de enfoques y su carácter multidisciplinar.

La situación de todo ser vivo, y por supuesto del ser humano, es el resultado de la interacción entre su individualidad y su entorno. Como parte intrínseca de esa individualidad, es preciso destacar el genotipo, ya que el ser humano del siglo XXI es el resultado de milenios de evolución que han conseguido la supervivencia de aquellos individuos que han mutado en el sentido más favorable, que mejor han respondido a situaciones de cataclismos, sequías extremas, glaciaciones, así como a la escasez de alimento y al tipo de alimento disponible. Así, al ambiente también pertenece la dieta, y la selección de alimentos no siempre es posible en todas las edades y en todos los grupos poblacionales.

Para averiguar por qué unos individuos desarrollan unas enfermedades y otros no, debe tenerse en cuenta si todos ellos viven

en un idéntico entorno -y por tanto el condicionante fundamental es genético- o bien si los hábitos de vida inadecuados de algunos les sitúan en una situación de mayor riesgo respecto a otros. Enfermedades degenerativas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, o las neurodegenerativas, cuya evolución se produce durante décadas, son precisamente el desencadenante de multitud de factores que han estado interactuando.

En el caso del factor genético, se trata de todo un conjunto de genes que mutan o se expresan en función de la dieta y del ambiente. El individuo mutante, en términos evolutivos, en ocasiones es el que se ha adaptado y sobrevive más y con mejor estado de salud.

En este sentido, cito el ejemplo de la gran epidemia mundial que constituye la obesidad, y los hallazgos científicos que apuntan a que los individuos más conservadores mantienen un genotipo ancestro, muy útil en los inicios de la humanidad, porque permitió asimilar al máximo la escasa ración de alimento que había disponible, pero que en la actualidad, con la excesiva ingesta de alimentos y la escasa actividad física que caracteriza a nuestra sociedad desarrollada, les coloca en el grupo poblacional con más riesgo de obesidad, diabetes, síndrome de resistencia a la insulina, enfermedades cardiovasculares, etc., con el consiguiente coste social y económico.

En estas circunstancias, resulta un imperativo moral de las instituciones que se dedican a la investigación científica el hacer públicos los conocimientos que se van adquiriendo de estas interconexiones entre la Genética, la Nutrición y la Enfermedad, con el fin de proteger a los individuos y grupos de poblaciones más vulnerables y de contribuir

a establecer las pautas personales o de grupo más útiles en cada caso, para mantener la vida con mejor estado de salud en todas las edades.

Carlos Martínez

Secretario de Estado de Investigación

Prólogo: Ricardo Martí Fluxá

Nuestra sociedad está más preocupada que nunca por su bienestar. Cualquier noticia sobre nuevos avances en medicina y nutrición tiene un alto calado social e impacto mediático. Términos como Alimentos Funcionales, Nutrigenómica, Nutrición personalizada y otros aparecen en los medios de comunicación originando expectativas y promesas sobre salud y bienestar en las que, a veces, habría que poner un toque de realidad y rigor científico.

Paradójicamente, al mismo tiempo la sociedad occidental envejece y el hábito sedentario y una nutrición incorrecta, tanto en cantidad como en calidad, han disparado el aumento de enfermedades degenerativas asociadas a la llamada sociedad del bienestar, alarmando a las administraciones que preocupadas por el enorme esfuerzo social que supondrá la creciente atención de las enfermedades del bienestar y sus secuelas, se esfuerzan en prevenirlas difundiendo y promoviendo los mejores hábitos nutricionales y de vida que la ciencia va aconsejando. La industria ha de cooperar en este esfuerzo y para ello debe empezar conociendo, comprendiendo y compartiendo los conocimientos generados por la ciencia.

Esta década ha traído importantes cambios en nuestra visión sobre Nutrición y Salud. En el 2003 se completó, tras trece años de esfuerzo, la secuencia completa del genoma humano. La potencia de las técnicas experimentales, el conocimiento científico generado y el trabajo en cooperación han

abierto nuevos campos y expectativas en la medicina, la farmacia y también en la moderna industria alimentaria.

Nutrigenómica, proteómica y metabolómica son ciencias emergentes que estudian las relaciones entre salud, nutrición y herencia genética desde enfoques distintos. El caudal de información suministrado por estas nuevas ciencias es inmenso, pero por cada respuesta obtenida surgen cien nuevas preguntas. Cada día nos vamos conociendo más a nosotros mismos y ese conocimiento pone de manifiesto las interrelaciones entre dieta y salud o enfermedad, justificando la famosa frase de Hipócrates que tanto nos gusta en nuestro Instituto: “Deja que el alimento sea tu medicina y la medicina tu alimento”.

Pero la Ciencia también nos indica que si bien la Humanidad en lo global es una, en lo particular, los individuos que la componen son plurales, resultado de siglos de deriva y selección genética que han introducido diferencias entre ellos y estas diferencias explican o pueden ayudar a explicar los numerosos resultados contradictorios o no concluyentes observados en los estudios poblacionales y las diferentes respuestas individuales o de grupo ante unos determinados medicamentos, dieta alimentaria o hábitos de vida. Los hallazgos de la Nutrigenética parecen indicarnos que dotaciones genéticas que hace miles de años fueron óptimas y posibilitaron la supervivencia, en las circunstancias actuales se han vuelto inadecuadas o adversas.

Aprovechando el pensamiento de Scheller y Heidegger, parecería que nunca hemos sabido tantas cosas sobre el hombre y nunca hemos sabido menos de cada hombre.

El Instituto Tomás Pascual Sanz para la Nutrición y la Salud no puede estar ajeno a este conocimiento emergente y por ello aceptó con gran placer la iniciativa de la doctora Pilar Vaquero del Consejo Superior de Investigaciones Científicas de organizar el seminario

cuyo fruto final es este libro. Nuestro agradecimiento al CSIC, a la Comunidad de Madrid y a la Universidad Complutense, el esfuerzo conjunto de todos ha hecho posible aprender y compartir.

Ricardo Martí Fluxá

Presidente Instituto Tomás Pascual Sanz
para la Nutrición y la Salud



Prólogo: Rafael Rodrigo

Las disciplinas científicas son, en definitiva, parcelaciones arbitrarias de la realidad cognoscible, que hemos ido levantando a lo largo del tiempo, con el fin de poder trabajar con mayor detalle y, por lo tanto, más eficazmente, el de otra forma inabarcable campo del conocimiento.

Incluso las grandes áreas académicas, como la Química, la Física, la Biología, la Matemática, que escribo con mayúsculas a conciencia, no dejan de ser sino diferentes vías de acceso para la comprensión de la realidad.

Sin embargo, a la hora de plantearnos temas de investigación de cierta complejidad, observamos cómo nos vemos obligados, con frecuencia, a romper las costuras de las disciplinas tradicionales, para que el traje resultante se adapte mejor a nuestras necesidades epistemológicas.

El hecho es que el Consejo Superior de Investigaciones Científicas tiene incorporado este planteamiento transdisciplinar a su propia organización y de este modo, sus áreas de conocimiento no reproducen los esquemas disciplinarios clásicos, tradicionales de las facultades universitarias, sino que se han establecido sobre ejes temáticos como “alimentos”, “recursos naturales” o “ciencias agrarias”.

Este libro que el lector tiene en sus manos es un ejemplo de este acercamiento transdisciplinar a un tema complejo, a saber, el de las interacciones que se producen en muchas patologías entre la base genética,

las dietas alimentarias, la bioquímica del metabolismo y sus implicaciones para la salud pública.

El Acuerdo Marco suscrito el pasado año entre el CSIC, la Universidad Complutense de Madrid y la Dirección General de Salud Pública y Alimentación de la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, a través de su Instituto de Salud Pública, para realizar actividades de investigación, formación y divulgación en la temática de la interacción Genética-Nutrición-Enfermedad, ya ha comenzado a dar sus frutos. Así, se recogen en este texto las ponencias presentadas en el Workshop celebrado en octubre de 2007, y tanto para aquellas jornadas como para la edición del presente libro se ha contado con la financiación e impulso del Instituto Tomás Pascual, que entre sus objetivos incluye promover la investigación y divulgación en Nutrición y Salud.

El carácter multifactorial del libro, así como el hecho de que sus autores procedan de diferentes instituciones, constituyen un ejemplo de la cultura institucional del CSIC, que aspira a seguir manteniendo su política de puertas abiertas, de superación de verdades establecidas y de compartimentos estancos.

Rafael Rodrigo

Presidente del Consejo Superior
de Investigaciones Científicas



Introducción: M^a Pilar Vaquero

El siglo XX constituyó la gran revolución del descubrimiento de las vitaminas que resolvieron graves problemas carenciales. También la distinción entre aminoácidos esenciales y no esenciales, tipos de ácidos grasos y sus funciones, identificación de nuevos elementos traza y ultratrazas, concepto de fibra y sus fracciones, y la asociación de todos estos nutrientes con el desarrollo de enfermedades. Otro gran avance del pasado siglo fue el descubrimiento de la doble hélice del ADN y el código genético. Pero Nutrición y Genética son ciencias que empiezan a comprenderse y convivir en el actual siglo XXI. Los términos genética nutricional, nutrigenética y nutrigenómica afloran. Se trata de entender por qué unos individuos responden a una dieta y otros no, lo que en la jerga científica señalamos como sujetos “respondedores” y “no respondedores”, y cuál es el mecanismo molecular que subyace en esa diferente respuesta.

Superados los tiempos de escasez de alimentos, y cuando tenemos todo un abanico de recomendaciones dietéticas, pirámides, guías para la población, nos damos cuenta de que para determinados individuos un patrón de dieta puede no ser efectivo. Las enfermedades de la civilización moderna -obesidad, osteoporosis, arteriosclerosis, diabetes, cáncer, etc.- son trastornos multifactoriales. Los genes del pasado y nuestra sociedad actual ¿son compatibles? ¿cómo interactúan los hábitos de vida con los genes? ¿qué genes predisponen a enfermedad cardiovascular? ¿cuáles a obesidad?

Estas preguntas, a modo de titulares de periódico, son las que se puede hacer cualquier persona interesada en mantener su salud. Los factores genéticos interactúan con los ambientales, entre los que se incluyen los hábitos alimentarios. Además, en la mayoría de las ocasiones las enfermedades de alta prevalencia tienen una base poligénica, lo que obliga a todo un despliegue de herramientas metabólicas y bioinformáticas para asociar los múltiples polimorfismos genéticos con otros factores ya conocidos del riesgo de enfermedad.

En este libro recogemos los temas presentados en el Workshop Genética-Nutrición-Enfermedad, celebrado en la sede central del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, en octubre de 2007, año de la Ciencia. Incluye temas candentes como la disyuntiva entre recomendaciones dietéticas y nutrición personalizada; la implicación de la Nutrición en la Salud Pública y la necesidad de fomentar la educación nutricional; las bases genéticas de las enfermedades cardiovasculares, obesidad y anemia ferropénica; la interacción genotipo-dieta-actividad física; los factores desencadenantes del cáncer, de la resistencia a la insulina, y en definitiva los conocimientos para discernir entre los factores modificables y no modificables que condicionan la aparición de estas enfermedades.

La posibilidad de recopilar este material y reunir a expertos de prestigio internacional, ha sido posible gracias a la colaboración de instituciones y personas.

Desde estas líneas agradezco sinceramente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas, a la Dirección General de Salud Pública y Alimentación de la Comunidad de Madrid, y a la Universidad Complutense de Madrid, porque este libro y el Workshop que lo precedió se han realizado bajo el amparo del acuerdo marco suscrito entre los tres organismos públicos, con el objetivo de estimular la investigación, difusión y formación en la interacción Genética-Nutrición-Enfermedad (GENUTREN). Además, el mencionado encuentro y este volumen han contado con la financiación y el impulso del Instituto Tomás Pascual que apuesta por el fomento de la investigación y divulgación en todos los temas de Nutrición y Salud.

Respecto a las personas, este libro no habría sido posible sin el esfuerzo y dedicación de Marco Antonio Delgado y Alfonso Perote, del Instituto Tomás Pascual, y el apoyo de Eduardo Arroyo de la Universidad Complutense de Madrid, y Susana Belmonte de la Comunidad de Madrid. También agradezco sinceramente la labor desinteresada de los miembros de la secretaría científico-técnica: Carlos Baeza, Beatriz Ceacero, Ana López-Parra, Dolores Martín de Santa-Olalla, Jorge Martínez, Santiago Navas-Carretero, Ana M^a Pérez-Granados y Miriam Tirado.

M^a Pilar Vaquero

Coordinadora Científica



CONFERENCIA INAUGURAL

La revolución del genoma humano.
¿Qué significa genómica,
epigenética, nutrigenética,
nutrigenómica, metabolómica?

Conferencia inaugural

La revolución del genoma humano. ¿Qué significa genómica, epigenética, nutrigenética, nutrigenómica, metabolómica?

José María Ordovás y Dolores Corella

Nutrition and Genomics Laboratory, JM-USDA Human Nutrition Research Center on Aging at Tufts University, Boston, MA, Estados Unidos y Genetic and Molecular Epidemiology Unit, Valencia University and CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición, Valencia, Spain

Resumen

Desde hace décadas es conocida la existencia de una distinta respuesta inter-individual a la misma dieta. Sin embargo, los factores implicados en esta diferente respuesta no son bien conocidos, hipotetizándose una importante modulación genética. Los nuevos conocimientos derivados de la secuenciación del genoma humano, y de toda la tecnología asociada, posibilitan su integración en la nutrición clásica, dando lugar al auge de una nueva disciplina, la Genómica Nutricional o Nutrición Molecular, que promete una mayor personalización de las dietas. Sin embargo, para que estas promesas se hagan realidad son todavía necesarios más estudios que aporten un mayor nivel de evidencia científica. Tanto es así, que en esta disciplina tan reciente, todavía existe confusión acerca de la delimitación de sus conceptos. En este sentido, dos términos están emergiendo con fuerza: nutrigenética y nutrigenómica.

La nutrigenética se centraría en el estudio de la distinta respuesta fenotípica a la dieta, mientras que la nutrigenómica estudiaría los mecanismos moleculares que explican la distinta respuesta fenotípica a la dieta en función del genotipo, interrelacionando estos cambios con aspectos proteómicos y metabolómicos. Con esta delimitación de conceptos, el término Genómica Nutricional supondría una mayor generalización, y englobaría tanto nutrigenética como nutrigenómica. También se revisarán los conceptos de epigenética, metabolómica y otras ómicas relacionadas.

Introducción

Frecuentemente se afirma que la nutrición es una ciencia muy reciente ya que, aunque la relación entre el consumo de alimentos y la salud ha sido observada desde la antigüedad, la palabra “nutrición” no fue utilizada con frecuencia hasta la segunda mitad del siglo XVIII, cuando el químico francés Lavoisier estableció las bases científicas de la nutrición moderna.

Desde entonces, los progresos en esta ciencia se han sucedido de manera paulatina, avanzando desde la focalización en el estudio de las enfermedades carenciales, que centró el interés de los investigadores en la primera mitad del siglo XX, a la exhaustiva investigación sobre nutrición y enfermedades crónicas, que dominó la segunda mitad del siglo XX. También frecuentemente se afirma que la nutrición es una disciplina muy compleja en la que todavía no se dispone de los instrumentos ni herramientas metodológicas suficientes para estudiar el aporte e inter-relación de todos los componentes de la dieta con la suficiente precisión, por lo que frecuentemente se incurre en sesgos en los estudios epidemiológicos que contribuyen a incrementar la confusión de los nuevos en la relación entre dieta y salud (1). Además, a esta dificultad en la medida de la dieta, se suma otra complejidad frecuentemente observada que es la distinta respuesta inter-individual a la misma dieta en función de las características específicas de cada persona (2-4). Múltiples estudios han observado la distinta respuesta inter-individual a la dieta determinando diversos fenotipos (obesidad, aumento de colesterol plasmático, concentraciones de vitaminas o minerales en plasma, etc.), y han clasificado a los individuos en normo-respondedores, hipo-respondedores o hiper-respondedores en función de si su respuesta fenotípica a la dieta era la esperada, menor a la esperada o superior a la esperada, respectivamente. Sin embargo, a pesar del conocimiento de esta distinta respuesta, los mecanismos que la explican no se conocen. Por ello, se hipotetiza que el conocimiento del genoma humano puede ser muy importante para ayudar a descifrar los mecanismos moleculares que determinan la respuesta inter-individual y generar así una serie de bio-marcadores de respuesta que permitan conocer con antelación a la intervención dietética, el éxito de la misma. Así, tras la publicación de la finalización del Proyecto Genoma Humano y la realización de su publicación conmemorativa en abril de 2003 (5),

se afirma que en el siglo XXI la nutrición entra en la nueva era de la Genómica Nutricional (6). La integración en la nutrición clásica de los conocimientos derivados de la secuenciación del Genoma Humano, y de toda la tecnología paralela, ha dado lugar al auge de una nueva disciplina, la Genómica Nutricional o Nutrición Molecular, que promete un mejor tratamiento y prevención de las enfermedades a través de dietas más individualizadas (7). Para comprender mejor las realidades y promesas que nos ofrece esta disciplina es necesario tener un buen conocimiento tanto de nutrición como de genética y de biología molecular. Ya que en los últimos años, los avances más espectaculares se han producido en el ámbito del genoma humano, revisaremos brevemente los orígenes de este proyecto, sus objetivos, los conocimientos generados, las tecnologías desarrolladas y el estado actual y previsiones futuras de la genómica y de otras ómicas paralelas así como su integración en la nutrición clásica.

La revolución del genoma humano

El 1 de junio de 2007 se publicó en *Nature news* que se había presentado, almacenada en dos DVDs, la primera secuencia completa diploide de una persona. Esta secuencia, presentada en Houston por Richard Gibbs, Director del "Human Genome Sequencing Center" en el "Baylor College of Medicine", y por Jonathan Rothberg, fundador de la compañía biotecnológica denominada "454 Life Sciences", se había conseguido por un coste inferior a un millón de dólares. Además, dicha secuencia tenía el valor simbólico añadido de pertenecer a James D. Watson. El Dr. Watson nacido en Chicago, Illinois, en 1928, recibió en 1962 el premio Nobel de Fisiología y Medicina por su descubrimiento de la doble estructura helicoidal del ADN, descubrimiento que fue crucial para los avances posteriores en el estudio de su función.

Watson publicó este descubrimiento junto con Francis Crick, investigador del laboratorio Cavendish en Cambridge, Reino Unido, el 25 de abril de 1953 en la revista *Nature* (8). Sus hallazgos se basaron en los trabajos previos del bioquímico Erwin Chargaff, quien en 1950 demostró que en el ADN, el número de bases adenina (A) era igual al de timinas (T) y el de citosinas (C) al de guaninas (G) (9). También fue fundamental para la publicación de Watson y Crick la contribución de la genial investigadora Rosalind Franklin, quien trabajaba en King's College de Londres en colaboración con Maurice Wilkins. En mayo de 1952, Rosalind Franklin, con un difractor de rayos X obtuvo la excelente fotografía (denominada foto número 51) del ADN hidratado que permitía ver una perfecta X en el centro, a partir de la cual dedujo la forma helicoidal, en forma de escalera de caracol de la macromolécula de ADN. Dicha foto fue mostrada por Wilkins a Watson y Crick antes de su publicación por Rosalind. Wilkins compartió el premio Nobel de 1962 junto con Watson y Crick, Rosalind falleció de cáncer en 1958 a los 38 años, posiblemente por la intensa exposición a los rayos X en su trabajo.

Con los descubrimientos de estos investigadores comenzó una época dorada en la biología molecular. Se descifró el código genético y se descubrieron nuevas tecnologías que permitían avanzar en el conocimiento de las funciones del gen. Sin embargo, se seguía desconociendo la localización de los genes en los cromosomas humanos, la secuencia de la mayoría de ellos y la posible asociación de las alteraciones en la secuencia con los distintos estados de salud-enfermedad. Ante esta limitación de conocimientos, Robert Sinsheimer, rector de la University of California, en Santa Cruz, Estados Unidos, organizó en 1985 el primer congreso para discutir los aspectos técnicos de la secuenciación del genoma, idea que fue madurando en los años posteriores, en los que surgieron distintas iniciativas (10).

Tras superar algunos enfrentamientos iniciales entre investigadores del Departamento de Energía (DOE) y los Institutos Nacionales de la Salud (NIH), de los Estados Unidos acerca del liderazgo en el proyecto, en 1990, presentan una propuesta conjunta para su financiación. En esta propuesta, plantean la creación de grupos de trabajo para la secuenciación, mapeo, creación de bases de datos, y estudio de las implicaciones éticas, legales y sociales derivadas de la secuenciación del genoma humano. Con ello, el 1 de octubre de 1990 se inicia oficialmente el Proyecto Genoma Humano como proyecto público de investigación internacional al que se suman otros países (10). Aunque inicialmente se fijó el año 2005 como fecha de finalización del Proyecto Genoma Humano, gracias al espectacular desarrollo de la biotecnología y de la bioinformática, así como de la competencia privada, la finalización oficial del Proyecto pudo llevarse a cabo mucho antes. Aunque la presentación oficial de la finalización del Proyecto Genoma Humano se realizó en abril de 2003 (5), coincidiendo con el 50 aniversario de la publicación de la estructura de la doble hélice de ADN por Watson y Crick (8), y su publicación final en octubre del 2004 (11), ya en febrero de 2001 se realizaron las primeras publicaciones de los borradores del genoma humano. A la iniciativa del consorcio público internacional, se sumó la competencia privada en la secuenciación del genoma a través de la empresa denominada Celera Genomics, dirigida por Craig Venter, quien unos años antes había liderado el proyecto público. Durante la misma semana de febrero de 2001, se publicaron los dos borradores del genoma humano en dos de las revistas científicas internacionales más prestigiosas. En *Nature*, se publicó la versión preliminar del genoma humano a la que había llegado el denominado consorcio público internacional (12); y en *Science*, se publicó la versión de Craig Venter (13).

Es precisamente la secuencia completa del genoma diploide individual de Craig Venter, la primera que ha sido publicada en una revista científica, en septiembre de 2007 (14). Recordemos que la secuencia individual de Watson, que se hizo pública en junio de 2007, no fue editada. Curiosamente, de los miles de millones de pares de bases existentes en las secuencias de los genomas de Watson y Venter, ambos han hecho comentarios de su secuencia centrados en el gen de la APOE, reflejando de esta manera anecdótica la relevancia de esta proteína y su variación genética. El gen APOE está localizado en el cromosoma 19 y codifica una proteína con diversas funciones que ha sido implicada en el metabolismo lipídico, determinando fundamentalmente las concentraciones plasmáticas de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (c-LDL). Este gen presenta variaciones comunes en su secuencia que dan lugar a cambios de aminoácido en la proteína en posiciones 112 y 158 (15, 16). En función de estos cambios, se distinguen tres alelos en la población, denominados: E2, E3 y E4. El alelo E2 posee el aminoácido cisteína en las dos posiciones, el E3 posee cisteína en el aminoácido 112 y arginina en el 158 y el alelo E4 posee arginina en ambas posiciones. La frecuencia de dichos alelos varía según el origen geográfico de la población. En general, para población caucásica se ha estimado en: E2 7%, E3 78% y E4 15%. En general, los portadores del alelo E2 presentan menores concentraciones plasmáticas de c-LDL que los homocigotos E3/E3; mientras que los portadores del alelo E4, presentan concentraciones de c-LDL más elevadas que los anteriores. Además, el alelo E4 se ha asociado a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y de enfermedad de Alzheimer. En relación con este polimorfismo, el comentario de Watson al hacerse pública su secuencia fue que se omitiera la información referente a este genotipo concreto,

puesto que no quería conocer si se encontraba en una situación de mayor riesgo genético de enfermedad de Alzheimer. Por el contrario, Venter, no ha tenido inconveniente en hacer pública dicha información, comentando en varios foros que es un portador del alelo E4, y asume ese mayor riesgo genético. Queda todavía por conocer cuáles son los factores ambientales que pueden modular el mayor o menor riesgo genético conferido por el genotipo de la APOE. En el ámbito de la genómica nutricional hay que destacar que el genotipo de la APOE fue uno de los primeros en los que se centraron los investigadores en el estudio de las denominadas interacciones gen-dieta. A pesar de varias décadas de estudio, todavía no se conoce bien la modulación dietética de los fenotipos determinados por este gen, sirviéndonos de reflexión acerca del incipiente nivel de conocimientos en esta nueva disciplina y la necesidad de seguir profundizando en la misma antes de pretender aplicaciones inmediatas en salud pública.

Concepto de interacción gen-ambiente y su relevancia en nutrición

La realización de análisis genéticos cada vez más rápidos y sofisticados nos permite conocer las variaciones en cualquier lugar del genoma. Queda por saber la relevancia de dichas variaciones genéticas determinando el riesgo de enfermedad. Muchas de las variantes genéticas ocurren en intrones, o no implican cambio de aminoácido aunque tengan lugar en zonas exónicas. Otras veces, ocurren variaciones en el número de copias de un gen, para las que todavía no se conoce bien su significado. Cuando las variaciones en el genoma implican cambios de aminoácidos o se encuentran en la región promotora afectando la transcripción, es más fácil estudiar su funcionalidad y ligarlas con un mayor nivel de causalidad a los fenotipos resultantes.

De todas formas, sea cual sea la naturaleza de la variación genética producida, si ésta está relacionada directa o indirectamente con alguna enfermedad, la primera reflexión es si esta asociación con el riesgo de enfermedad se produce de manera determinista (genotipo=fenotipo), o cabría la posibilidad de que existiera lo que se denomina modulación o interacción ambiental. El ambiente (o factores ambientales) estaría constituido por todos aquellos factores no genéticos e incluiría: los estilos de vida (dieta, ejercicio físico, consumo de tabaco, alcohol, estrés, etc.), el medio ambiente (contaminantes químicos, contaminantes físicos, microorganismos, etc.) y la asistencia sanitaria (fármacos, intervenciones quirúrgicas, otros cuidados de salud, etc.). Para algunas enfermedades será cuantitativamente más importante la influencia genética, mientras que para otras lo será la ambiental, pero en ambas tiene que producirse dicha interacción para llegar al resultado final en forma de fenotipo expresado (17). Cobran así un nuevo protagonismo las denominadas interacciones gen-ambiente en la etiología y prevención de la enfermedad. De esta forma, la información aportada por un análisis genético, tan sólo nos indicaría una situación provisional de riesgo que podríamos modular en función de los factores ambientales a los que estuviéramos expuestos. De entre todos los factores ambientales, la dieta es el cuantitativamente más importante, ya que continuamente se está expuesto a la misma y ofrece grandes posibilidades de modificación y de adaptación a los requerimientos concretos de cada persona. Existen ejemplos clásicos de interacciones gen-dieta en las denominadas enfermedades metabólicas clásicas (18) como la galactosemia, fenilcetonuria, hiperhomocisteinemia congénita, etc. en los que se puede modificar el fenotipo de enfermo conferido por alteraciones en algún gen, con una dieta adecuada y compatible la actividad enzimática que ha resultado dañada por la mutación genética (por ejemplo dietas bajas en galactosa, dietas bajas en fenilalanina o dietas ricas en ácido fólico, respectivamente).

A partir de este modelo de interacción gen-dieta y de los ejemplos aportados por las enfermedades monogénicas, se quiere ampliar el conocimiento a las enfermedades más complejas y prevalentes, como son las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, las demencias, la diabetes, la obesidad, etc. Para ello son necesarias todavía más investigaciones, y conseguir también un mejor conocimiento del genoma. Por otra parte, es necesario mejorar también la medida de la dieta y todas las variables asociadas en los estudios epidemiológicos. Un mayor detalle de todos estos aspectos se puede encontrar en una amplia revisión sobre el tema llevada a cabo por Ordovás et al (18).

A pesar de la dificultad del estudio del genoma y de la dieta, cada día se va avanzando en estos descubrimientos, no sólo desde la disciplina denominada genómica, sino desde todas las demás ómicas (el sufijo -oma tiene un origen latino que significa "conjunto de", por tanto la anteposición de este sufijo a diferentes estudios en biología cubre las nuevas aproximaciones de análisis masivo específico en las que se está enfocando la biología actual). Según el nivel de análisis, podemos encontrar distintas ómicas entre las que se encontrarían las genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica, etc. (Tabla I en página siguiente). Todas estas ómicas se están incorporando a la investigación nutricional clásica para generar nuevo conocimiento en genómica nutricional. Seguidamente se comentarán brevemente los aspectos más destacados de estas ómicas y sus principales aportaciones.

Genómica

Tras la finalización oficial del Proyecto Genoma Humano, parecía sencillo abordar el estudio de la implicación del genoma en el riesgo de enfermedad. Sin embargo, estos cinco años de nuevos descubrimientos e investigaciones han demostrado un mayor grado de complejidad que el inicialmente previsto.

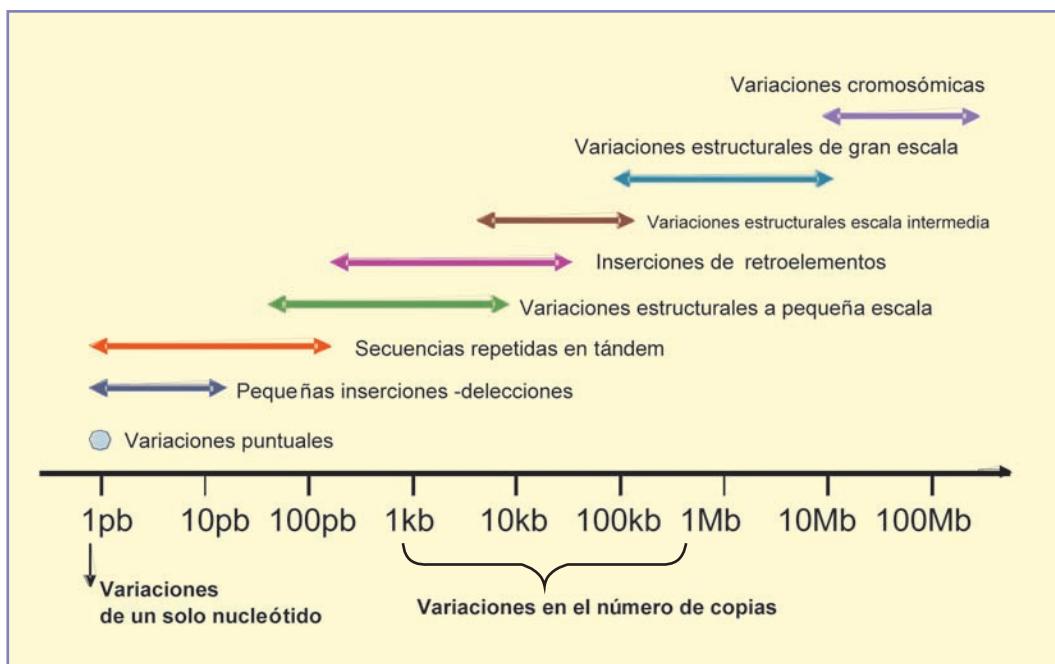
Tabla I. Nivel de análisis, definición y disciplinas integradas en la Genómica Nutricional

Nivel de análisis	Definición	Disciplina
GENOMA	Conjunto completo de genes de un organismo	GENÓMICA
TRANSCRIPTOMA	Conjunto completo de moléculas de ARN mensajero presentes en una célula, tejido u órgano	TRANSCRIPTÓMICA
PROTEOMA	Total de moléculas proteicas presentes en una célula, tejido u órgano	PROTEÓMICA
METABOLOMA	Conjunto completo de metabolitos en una célula, tejido u órgano	METABOLÓMICA
SER VIVO COMPLETO	Ciencia que integra a todas las ciencias denominadas "ómicas" en el contexto de un ser vivo	BIOLOGÍA DE SISTEMAS

Las variaciones en el genoma no sólo se limitan a los polimorfismos de un solo nucleótido, conocidos por sus siglas en inglés SNP (single nucleotide polymorphism), y entre los que se encontraría por ejemplo el polimorfismo -1131T>C en el promotor del gen APOA5, sino que existe un amplio espectro de las mismas, cuya función no es bien conocida. En la Figura 1, se presenta un esquema conteniendo el nombre de dichas variaciones y el rango de los tamaños de los fragmentos implicados (19). Además de los SNP, podemos encontrar inserciones y deleciones de pequeñas secuencias de ADN en cualquier lugar del genoma que pueden dar lugar a cambios de las pautas de lectura, etc. Un ejemplo de este tipo sería el del polimorfismo +2138InsCAGACC en el gen del receptor 3 de la melancortina (MC3R). Este polimorfismo consiste en la inserción de seis nucleótidos CAGACC en posición +2138 del gen MC3R. En algunos estudios este polimorfismo se ha asociado con medidas antropométricas y riesgo de obesidad, ya que dicha inserción podría influir en la expresión del gen y en las subsiguientes concentraciones de melancortina, la cual actuaría induciendo una disminución de la ingesta de alimentos (20).

Otras variaciones en el genoma son las denominadas secuencias cortas repetidas en tándem, que consisten en repeticiones una al lado de otra, de secuencias cortas (entre 2 y 100 pares de bases), un número variable de veces. Estas secuencias pueden estar repetidas 5 veces en un individuo, 13 veces en otro, etc. y este número asociarse a algún fenotipo. Son de uso frecuente en enfermedades neurológicas, un ejemplo clásico serían las repeticiones del trinucleótido CAG en el cromosoma 4, gen 1T15, en la enfermedad de Huntington. El gen codifica la proteína huntingtina, que se encuentra en todas las neuronas del cerebro. La expansión del trinucleótido repetido (CAG)*n* origina la enfermedad de Huntington por su efecto sobre la expresión o estructura de la proteína codificada por el gen 1T15. En los individuos normales existen entre 15 y 34 repeticiones de CAG, en cambio, el gen en los pacientes con enfermedad de Huntington contiene desde 35 hasta más de 66 repeticiones. Como el trinucleótido CAG codifica para glutamina, esto hace que se produzcan huntingtinas con una cadena anormalmente larga de glutaminas (21). Queda por determinar el efecto de la influencia de modulaciones dietéticas en distintas etapas de la vida en la expresión de estas proteínas.

FIGURA 1 | En escala logarítmica, en función del número de nucleótidos involucrado en los cambios: desde 1 par de bases (pb) hasta más de 100 megabases (Mb), se indica el rango aproximado en tamaño y el nombre con el que se designan las variaciones. Las variaciones más estudiadas son los polimorfismos de un sólo nucleótido y recientemente están cobrando interés las variaciones en el número de copias. Todas estas variaciones en el ADN se están incorporando en los estudios de genómica nutricional.



Otra forma de variaciones en el genoma son las inserciones de retroelementos. Los retrotransposones son secuencias que se han dispersado en el genoma después de una transcripción inversa a partir de ARN. Un ejemplo son las secuencias Alu humanas, llamadas así por contener generalmente en su interior una diana para la endonucleasa de restricción Alu. El genoma humano contiene cientos o miles de secuencias completas o parciales Alu que se localizan en el interior de intrones y entre genes.

Sin embargo, en los dos últimos años, las variaciones que más interés han despertado han sido las denominadas variaciones en el número de copias (CNVs, por sus siglas en inglés),

y que consisten en variaciones en el número de copias de segmentos específicos de cada gen, con un tamaño mínimo de 1000 pares de bases. Investigadores del Wellcome Trust Sanger Institute, en Cambridge, Inglaterra (22), encontraron aproximadamente 2.900 genes -más del 10 por ciento de los genes del genoma humano- con variaciones de este tipo. En total, el grupo identificó 1.447 CNVs distintas, con un tamaño promedio de 250.000 pares de bases, que de forma colectiva cubrían cerca del 12 por ciento del genoma humano. Sorprendía pues, que existieran variaciones tan grandes en el genoma, muchas de las cuales eran polimórficas y a pesar de implicar grandes fragmentos de ADN no parecían asociarse a enfermedades importantes.

Ya que hasta entonces, la mayoría de las investigaciones sobre la variabilidad genética se habían centrado en los SNPs, se han realizado algunos trabajos para investigar el impacto de las CNVs en comparación con los SNPs en la expresión génica. Así, Stranger et al (23) realizaron un análisis de asociación entre los niveles de expresión de 14.925 transcritos en 270 individuos que participaron en el proyecto internacional HapMap, y determinaron SNPs y CNVs en estos individuos. Llegaron a la conclusión de que los SNPs capturaban el 83,6% y las CNVs, el 17,7% de la expresión genética, pero las señales de los dos tipos de variación, tenían un porcentaje de superposición muy pequeño, situado en el 1,3%. Por ello se concluyó que es necesario estudiar ambos tipos de variaciones y no sólo los SNPs para profundizar en el estudio de la variabilidad genética. La importancia de las CNVs, así como de otras variaciones estructurales, se va incrementando exponencialmente, ya que a medida que se están obteniendo secuencias individuales completas del genoma, se está comprobando la importancia de tales variaciones, hace años atribuidas muchas veces a posibles errores de secuenciación.

En relación con las CNVs y su interés en nutrición, recientemente se ha publicado un artículo (24) que asocia, el número de copias del gen de la amilasa de la saliva (AMY1) con la cantidad de la proteína amilasa en la saliva. Este grupo de investigadores también ha encontrado que los individuos de las poblaciones que consumen dietas ricas en almidón, poseen un mayor número de copias del gen AMY1 que los individuos de aquellas poblaciones que consumen tradicionalmente dietas pobres en almidón. Por ejemplo, los yakutos -un grupo de etnia turca- del Ártico, cuya dieta tradicional consiste en pescado, tienen menos copias de AMY1 que los japoneses, cuya dieta incluye comidas con alto contenido de almidón como el arroz.

Estos hallazgos se han relacionado con la evolución humana, de forma que la habilidad humana para digerir alimentos con alto contenido de almidón como las patatas, podría explicar el éxito del *homo sapiens* sobre otras especies. Los investigadores creen que nuestros primeros ancestros humanos comenzaron a buscar nuevas fuentes de alimento más allá de las frutas maduras que comían los primates. Estas nuevas fuentes fueron alimentos con alto contenido de almidón, que se encontraban en plantas en la forma de tubérculos y bulbos, esto favorecería el desarrollo de genes AMY1, un rasgo aún más valioso, ya que facilitaría la digestión y el aprovechamiento de nutrientes permitiendo comer menos cantidad de alimentos y contribuyendo a un mayor desarrollo del cerebro (24).

Transcriptómica, proteómica, metabolómica y biología de sistemas

Si compleja es todavía la situación de la genómica, requiriendo todavía más años de investigación para comprender la variabilidad genética y su incorporación en los estudios nutricionales, todavía existen más interrogantes y mayores lagunas metodológicas en las ómicas derivadas de la misma. La transcriptómica puede ser definida como el estudio del conjunto de mRNAs que hay en un tejido u organismo determinado en un momento determinado (el transcriptoma). Los microarrays o chips de ADN son el principal exponente de esta tecnología y se basan en el principio de complementariedad de las cadenas de ácidos nucleicos. En un soporte se depositan en áreas micrométricas secuencias conocidas de ADN, lo que permite la representación de miles de genes en un solo chip. Cada uno de los mRNAs de la muestra a estudio, que es marcado previamente con moléculas fluorescentes, se hibridará de forma específica a su secuencia complementaria.

De este modo, la intensidad de la fluorescencia detectada mediante un escáner será una medida indirecta de la cantidad de mRNAs de cada uno de los genes. Midiendo la expresión de genes en distintas condiciones, podemos conocer qué hace que se sobre-exprese o se infra-exprese un gen y relacionarlo con características fenotípicas (25). Sin embargo, uno de los principales problemas de estos estudios es la falta de reproducibilidad, ya que todavía hay muchas variables que no se conocen bien y que pueden influir en los niveles de expresión. Para minimizar estos problemas, se han elaborado unos estándares básicos para realizar los experimentos de expresión con microarrays, entre ellos destacan los denominados MIAME ("Minimum Information About a Microarray Experiment").

En el ámbito de la nutrición, existen algunos estudios en los que se ha demostrado diferencias en el nivel de expresión de distintos genes en función de los nutrientes consumidos, entre ellos podemos citar el publicado por van Erk et al (26) en el que estudiaron cómo un desayuno alto en proteínas o alto en carbohidratos influía en la expresión genética en hombres sanos. Concluyeron que estos desayunos de distinta composición en macronutrientes provocaban una diferente expresión en 141 genes. En este conjunto de genes se encontraban sobre-representados genes implicados en la respuesta inmune. Además, el consumo de un desayuno rico en carbohidratos provocó una mayor expresión de genes implicados en el metabolismo de la glucosa, mientras que el desayuno rico en proteínas se asoció con una expresión diferencial de genes relacionados con la biosíntesis proteica.

Complementaria con la transcriptómica, tenemos la proteómica. El término "proteoma" fue usado por vez primera en 1995 para describir el conjunto de proteínas de un genoma, una célula o un tejido.

La proteómica es el estudio a gran escala de los productos génicos de un genoma mediante métodos bioquímicos, con el fin de obtener una visión global e integrada de los procesos celulares. El término proteómica se ha asociado tradicionalmente con la separación de un gran número de proteínas de una célula u organismo mediante 2D-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida). En los años noventa, la espectrometría de masas surge como un método analítico muy poderoso, ya que elimina muchas de las limitaciones del análisis mediante 2D-PAGE. Actualmente, la proteómica está evolucionando muy rápidamente y se están delimitando distintas áreas de especialización, incluyendo: los estudios de interacciones de proteínas, de modificaciones pos-traduccionales, el análisis funcional de proteínas y estudios de localización. También podemos distinguir la proteómica de expresión (estudio cuantitativo de la expresión de proteínas entre muestras que difieren en alguna variable), proteómica estructural (estudio de la localización subcelular de las proteínas y de las interacciones proteína-proteína mediante la purificación de orgánulos o complejos y la posterior identificación de sus componentes mediante espectrometría de masas) y proteómica funcional, para referirse a un estudio más dinámico. La incorporación de la proteómica en estudios nutricionales todavía es escasa, pero presenta grandes oportunidades (27). La metabolómica se centra en el análisis de las miles de moléculas que son producto del metabolismo, como azúcares, grasas, y otras moléculas no proteicas. Dada la complejidad de estos análisis, se está acuñando el término de metabolómica dirigida, la cual se centra en determinadas rutas metabólicas concretas para simplificar las interpretaciones. Más complejidad que la metabolómica, posee la biología de sistemas, que estudia procesos biológicos en el organismo utilizando un enfoque sistémico y basado en la modelización (28).

Epigenética

Término propuesto por C. H. Waddington para referirse a los cambios reversibles en el ADN que hacen que unos genes se expresen o no dependiendo de condiciones exteriores. La información epigenética modula la expresión de los genes sin alterar la secuencia de ADN. Existen diversos tipos de modulación epigenómica, entre ellos, la metilación del ADN es el más conocido y se sabe fuertemente regulado por determinados componentes de los alimentos. La modificación de histonas, incluyendo acetilación, metilación y fosforilación, es otro fenómeno epigenético muy estudiado, en cambio se conocen menos los mecanismos implicados en la denominada impronta genética (modificación epigenética del genoma que depende del origen materno o paterno del gameto transmisor). En los últimos años estos conceptos están siendo incorporados en los estudios nutricionales y se ha acuñado el término de epigenómica nutricional (29).

Genómica nutricional, nutrigenética y nutrigenómica

La genómica nutricional es una disciplina muy reciente y todavía existe cierta confusión en la delimitación de sus conceptos. Hace referencia al estudio conjunto de la nutrición y el genoma incluyendo todas las demás ómicas derivadas de la genómica (18). Dentro del marco amplio del concepto de genómica nutricional, podemos destacar dos sub-conceptos denominados nutrigenética y nutrigenómica. En sus antecedentes remotos, el término nutrigenética fue empleado por primera vez en 1975 por el Dr. R.O. Brennan en su libro titulado "*Nutrigenetics: New Concepts for Relieving Hypoglycemia*" (30); mientras que el término nutrigenómica fue utilizado en 1999 por DellaPenna (31), aplicado a denominar la disciplina científica dedicada a estudiar el genoma de las plantas con objeto de producir en las mismas un

óptimo contenido en micronutrientes para mejorar su aplicación en la protección de la salud humana. Actualmente, existe un amplio consenso en considerar la nutrigenética como la disciplina que estudia la distinta respuesta fenotípica a la dieta en función del genotipo de cada individuo (18); mientras que el término nutrigenómica está sujeto a una mayor varibilidad en su delimitación. Aunque muchas veces se utiliza el término nutrigenómica como sinónimo de genómica nutricional, en un sentido estricto, la nutrigenómica se considera como la disciplina que estudia los mecanismos moleculares que explican la distinta respuesta fenotípica a la dieta en función del genotipo. La nutrigenómica por tanto se centraría más en estudiar cómo los nutrientes regulan la expresión de los genes, cómo afectan los polimorfismos en la expresión y regulación, y cómo se interrelacionan estos cambios con aspectos proteómicos y metabolómicos (32).

Bibliografía

1. Kipnis V, Midthune D, Freedman L, Bingham S, Day NE, Riboli E, Ferrari P, Carroll RJ. (2002). Bias in dietary-report instruments and its implications for nutritional epidemiology. *Public Health Nutr* 5: 915-23.
2. Eaton DL, Bammler TK, Kelly EJ. (2001). Interindividual differences in response to chemoprotection against aflatoxin-induced hepatocarcinogenesis: implications for human biotransformation enzyme polymorphisms. *Adv Exp Med Biol* 500: 559-76.
3. Ciacci C, Maurelli L, Klain M, Savino G, Salvatore M, Mazzacca G, Cirillo M. (1997). Effects of dietary treatment on bone mineral density in adults with celiac disease: factors predicting response. *Am J Gastroenterol* 92: 992-6.
4. Krauss RM, Dreon DM. (1995) Low-density-lipoprotein subclasses and response to a low-fat diet in healthy men. *Am J Clin Nutr* 62:478S-487S.
5. Collins FS, Green ED, Guttmacher AE, Guyer MS; US National Human Genome Research Institute. (2003). A vision for the future of genomics research. *Nature* 422: 835-47.
6. Paoloni-Giacobino A, Grimble R, Pichard C. (2003). Genetics and nutrition. *Clin Nutr* 22: 429-35.

7. Mutch DM, Wahli W, Williamson G. (2005). Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition. *FASEB J* 19: 1602-16.
8. Watson JD, Crick FH. (1953). Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171: 737-8.
9. Chargaff E. (1950). Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. *Experientia* 6: 201-9.
10. Watson JD. (1990). The human genome project: past, present, and future. *Science* 248:44-9.
11. International Human Genome Sequencing Consortium (2004). Finishing the euchromatic sequence of the human genome *Nature*: 431, 931-945.
12. Lander et al; the International Human Genome Sequencing Consortium (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921
13. Venter JC et al (2001). The sequence of the human genome. *Science* 291: 1304-51.
14. Levy S, Sutton G, Ng PC, Feuk L, Halpern AL, Walenz BP, Axelrod N, Huang J, Kirkness EF, Denisov G, Lin Y, Macdonald JR, Pang AW, Shago M, Stockwell TB, Tsiamouri A, Bafna V, Bansal V, Kravitz SA, Busam DA, Beeson KY, McIntosh TC, Remington KA, Abril JF, Gill J, Borman J, Rogers YH, Frazier ME, Scherer SW, Strausberg RL, Venter JC. (2007). The Diploid Genome Sequence of an Individual Human. *PLoS Biol* 5: e254
15. Mahley RW. (1988) Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 240: 622-30.
16. Lahoz C, Schaefer EJ, Cupples LA, Wilson PW, Levy D, Osgood D, Parpos S, Pedro-Botet J, Daly JA, Ordovas JM. (2001). Apolipoprotein E genotype and cardiovascular disease in the Framingham Heart Study. *Atherosclerosis* 154: 529-37.
17. Corella D, Ordovás JM. (2005). Integration of environment and disease into 'omics' analysis. *Curr Opin Mol Ther* 7: 569-76.
18. Ordovás JM, Corella D. (2004). Nutritional genomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 5: 71-118.
19. Pollex RL, Hegele RA. (2007). Copy number variation in the human genome and its implications for cardiovascular disease. *Circulation* 115: 3130-8.
20. Boucher N, Lanouette CM, Larose M, Perusse L, Bouchard C, Chagnon YC. A +2138InsCAGACC polymorphism of the melanocortin receptor 3 gene is associated in human with fat level and partitioning in interaction with body corpulence (2002). *Mol Med* 8: 158-65.
21. The Huntington's Disease Collaborative Research Group (1993). A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 72: 971-83.
22. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, Gonzalez JR, Gratacos M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwork C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME. (2006). Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 444: 44-54.
23. Stranger BE, Forrest MS, Dunning M, Ingle CE, Beazley C, Thorne N, Redon R, Bird CP, de Grassi A, Lee C, Tyler-Smith C, Carter N, Scherer SW, Tavare S, Deloukas P, Hurles ME, Dermitzakis ET. (2007). Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science* 315: 848-53.
24. Perry GH, Dominy NJ, Claw KG, Lee AS, Fiegler H, Redon R, Werner J, Villanea FA, Mountain JL, Misra R, Carter NP, Lee C, Stone AC. (2007). Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation. *Nat Genet* 39:1256-60.
25. Viguerie N, Poitou C, Cancellio R, Stich V, Clement K, Langin D. (2005). Transcriptomics applied to obesity and caloric restriction. *Biochimie* 87: 117-23.
26. van Erk MJ, Blom WA, van Ommen B, Hendriks HF (2006). High-protein and high-carbohydrate breakfasts differentially change the transcriptome of human blood cells. *Am J Clin Nutr* 84: 1233-41.
27. Schweigert FJ. Nutritional proteomics: methods and concepts for research in nutritional science. (2007). *Ann Nutr Metab* 51: 99-107.
28. Lemberger T. (2007). Systems biology in human health and disease. *Mol Syst Biol* 3: 136.
29. Gallou-Kabani C, Vige A, Gross MS, Junien C. (2007). Nutri-epigenomics: lifelong remodelling of our epigenomes by nutritional and metabolic factors and beyond. *Clin Chem Lab Med* 45: 321-7.
30. Brennan RO. Nutrigenetics: New Concepts for Relieving Hypoglycemia. M. Evans and Co., New York, USA, 1975.
31. DellaPenna D. (1999). Nutritional genomics: manipulating plant micronutrients to improve human health. *Science* 285: 375-9.
32. Muller M, Kersten S. (2003). Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat Rev Genet* 4: 315-22.



Capítulo 1

Importancia de la nutrición y
hábitos de vida en la prevención.
Estrategias de educación
nutricional en la
Comunidad de Madrid

Capítulo 1

Importancia de la nutrición y hábitos de vida en la prevención. Estrategias de educación nutricional en la Comunidad de Madrid

Susana Belmonte

Dirección General de Salud Pública y Alimentación, Consejería de Sanidad,
Comunidad de Madrid

Resumen

La sociedad en la que vivimos va evolucionando y, aunque a principios del siglo pasado, cuando se hablaba de alimentación, no se pensaba en la calidad ni en la seguridad de los alimentos, sino más bien en su disponibilidad y cantidad, ya que éstos eran escasos y la prioridad era poder conseguirlos, actualmente en las sociedades de nuestro entorno, la situación ha cambiado de manera notable pues disponer de alimentos ya no es una limitación y lo que preocupa es lo que comemos y cómo lo comemos, hablamos entonces de calidad y de seguridad alimentaria.

Pero además, desde comienzos del siglo XX en nuestro país, como en el resto de países desarrollados, se han producido importantes cambios relacionados con la industrialización, la urbanización y el desarrollo tecnológico y económico, que han dado lugar a nuevas formas de producción, procesado y distribución de los alimentos.

Estos cambios han modificado y ampliado extraordinariamente los determinantes de la elección de los alimentos y, en definitiva, el comportamiento y los hábitos alimentarios de la población, con una gran repercusión en el estado nutricional de la misma.

Ciertos aspectos de esta evolución han sido realmente positivos. Sin embargo, otros muchos relacionados no sólo con nuestro modelo dietético, sino también con nuestro estilo de vida, como son la incorporación de la mujer al mercado laboral, las largas distancias de los centros escolares y laborales al domicilio familiar, los nuevos sistemas de organización familiar, la existencia de menos tiempo para las comidas durante las jornadas laborales, etc., han propiciado cambios en las pautas alimentarias de la población, alejándonos de nuestra dieta mediterránea tradicional, basada fundamentalmente en el consumo de cereales, legumbres, aceite de oliva, patatas, frutas, hortalizas de temporada, leche, huevos, pescado y un moderado consumo de carne, que responde a lo que se considera dieta equilibrada y saludable.

Es necesario realizar intervenciones en todos los ámbitos de la población, con objeto de formar e informar al consumidor sobre la importancia que una alimentación adecuada tiene sobre su estado de salud y el de su familia. Los programas de educación nutricional constituyen un buen medio para mejorar los estilos de vida, reforzando los hábitos saludables y modificando los negativos, para conseguir que la sociedad camine en la dirección correcta.

Introducción

Actualmente está ampliamente reconocida la relación entre la dieta y la salud, sin embargo muchos problemas de salud en las sociedades desarrolladas tienen su origen, en gran parte, en unos hábitos inadecuados. En este sentido, la conducta alimentaria representa uno de los aspectos con importante repercusión directa o indirecta sobre la salud.

Sin embargo, cuando hablamos de la visión preventiva de la salud, es importante comenzar por definir el concepto de salud. Utilizando el modelo propuesto por Lalonde, definiríamos ésta como una variable dependiente, influida por los llamados factores determinantes de la salud; éstos son:

- Factores biológicos.
- Factores dependientes del medioambiente.
- Factores que dependen del estilo de vida.
- Factores ligados al sistema sanitario.

Estos factores son modificables, al menos teóricamente, y por ello las acciones de la salud pública deben dirigirse hacia esa modificación. Lalonde en 1974, demostró que para lograr salud había que invertir esfuerzos y recursos en los estilos de vida que tiene la gente a través de la educación, de la información, a través de las políticas públicas saludables y poner recursos en los entornos, es decir, en las condiciones de vida en que vive la gente.

El informe de Lalonde introdujo por primera vez el concepto de promoción de la salud.

Posteriormente, en 1986 se realiza la Primera Conferencia de Promoción de la Salud en Canadá, de donde emana la Carta de Ottawa, en ésta se define ya lo que es el concepto de promoción de la salud: "consiste en proporcionar a los pueblos los medios necesarios para mejorar su salud y ejercer un mayor control sobre la misma". La Carta de Ottawa establece cinco líneas de acción, o lo que es lo mismo, cinco estrategias fundamentales.

Dice que para poder intervenir en materia de promoción de la salud es necesario:

- Promover y construir políticas públicas saludables.
- Crear un entorno saludable, entorno físico, entorno social, entorno familiar, de las condiciones sociales, del empleo, de la educación, etc.
- Desarrollar actitudes personales y habilidades para la vida.
- Fortalecer la acción comunitaria en cuanto a la organización y el empoderamiento de la gente para transformar su situación.
- Reorientar los servicios de salud hacia la promoción y la atención integral y no fragmentada del ser humano.

Cuando hablamos del mantenimiento de la salud, tenemos dos paradigmas diferentes, pero a la vez complementarios, por un lado la prevención, cuyo objetivo está dirigido a disminuir y controlar las enfermedades, y por otro la promoción, cuyo objetivo es lograr la salud y el bienestar. La prevención trata los factores de riesgo y la promoción aborda los factores condicionantes de la salud; la prevención está dirigida básicamente al nivel individual y a grupos enfermos y la promoción está dirigida al nivel poblacional, a toda la población, sana y enferma.



Plan Integral de Alimentación y Nutrición

Por otra parte disponemos de información sobre los diez factores de riesgo identificados por la Organización Mundial de la Salud como claves para el desarrollo de las enfermedades crónicas, de ellos cinco están estrechamente relacionados con la alimentación y el ejercicio físico. Éstos son, además de la obesidad, el sedentarismo, la hipertensión arterial, la hipercolesterolemia y el consumo insuficiente de frutas y verduras.

Por tanto parece evidente que la alimentación poco saludable y no practicar actividad física con regularidad son las principales causas de las enfermedades crónicas más importantes, pero también son susceptibles de modificarse.

Es fundamental, fomentar políticas y planes de acción destinados a mejorar los hábitos alimentarios y aumentar la actividad física en la población. Estas políticas deberán ser sostenibles, integrales y buscar una amplia participación de la sociedad.

En este contexto la Consejería de Sanidad y Consumo de la Comunidad de Madrid puso en marcha el **Plan Integral de Alimentación y Nutrición**. Este Plan se sustenta en tres pilares o líneas de actuación que son la **Alimentación Segura**, la **Alimentación de Calidad** y la **Alimentación Saludable**, esta última línea es la que contempla todas las acciones encaminadas a disminuir la tendencia creciente de sobrepeso y obesidad en la población, y al fomento de hábitos alimentarios saludables en nuestra Comunidad.

Ámbitos de intervención

La modificación positiva de los hábitos de consumo requiere de una política nutricional basada en acciones encaminadas a la información y formación de la población sobre los objetivos nutricionales más adecuados, acciones que deben plantearse desde la infancia, ya que es en esta etapa donde se conforman los hábitos alimentarios que van a perdurar, casi con seguridad, en la edad adulta.

Sin embargo, es fundamental realizar intervenciones en los distintos ámbitos de la sociedad de manera que se puedan reforzar los mensajes dirigidos a la promoción de la alimentación saludable.

Ámbito escolar

Pese a que tenemos conciencia de que la escuela es la institución sobre la que desembocan todas las demandas de colaboración para mejorar hábitos, no podemos dejar de reafirmarnos en que si queremos lograr el objetivo de una sociedad mejor preparada en esta materia hay que trabajar en el medio escolar, tanto en las actividades realizadas en el aula como en las actividades extraescolares, ya que este entorno ofrece innumerables oportunidades para formar a los niños sobre hábitos alimentarios saludables y constituye uno de los lugares más eficaces para modificar los estilos de vida de los niños y adolescentes.

1. Comedor escolar. Los comedores escolares son elementos de educación para la salud, que pueden y deben aprovecharse para facilitar la asimilación de pautas alimentarias saludables por los niños y adolescentes.

Es imprescindible conocer qué comen los niños en la escuela y su complementariedad con los menús que se consumen en el hogar. Ya que si tenemos una visión clara de cómo come la población infantil y juvenil, tendremos una visión del futuro de la alimentación en la Comunidad de Madrid.

Para valorar el menú que consumen los niños en el comedor, se utiliza una herramienta que es el **Protocolo de Valoración Nutricional del Menú Escolar**.

Este Documento tiene como finalidad, por una parte la unificación de criterios en las actividades de inspección, seguimiento y evaluación de los menús que desarrollan los profesionales (Técnicos de Área de Salud Pública, Ayuntamientos que llevan a cabo tareas de seguimiento de la calidad del menú escolar y Centros educativos), pero también pretende ser una herramienta que facilite e incentive la necesaria cooperación de los padres, centros educativos y empresas proveedoras.

Para la valoración del menú, primeramente se recoge la información que llega a los padres y se establece la frecuencia de consumo mensual de los grupos de alimentos. Posteriormente, se hace una evaluación en base a las recomendaciones establecidas y se indica las posibles modificaciones, correcciones o en su caso el informe favorable de la valoración, que se envía al centro educativo.

2. Promoción del desayuno saludable. Estudios recientes llevados a cabo en España entre 5.000 niños y jóvenes (Estudio Enkid, 1998-2000), muestran que entre un 8-9% no desayunan nada, y sólo un 25-29%, realizan un desayuno adecuado.

En la Comunidad de Madrid, la Encuesta de Nutrición Infantil (2001-02) llevada a cabo en niños de 5 a 12 años, observó que el 1,6% de los niños no había desayunado nada en alguna de las ocasiones en las que fueron entrevistados y que en el 88% de los casos el desayuno proporcionó menos energía de la recomendada (25% de las kcal diarias).

A la luz de estos datos resulta evidente la necesidad de realizar una adecuada educación nutricional, concretamente en lo relativo al hábito del desayuno, con el fin de devolver a este momento del día la importancia y valor que tiene para el mantenimiento de la salud.

Por este motivo, a lo largo de los últimos años y desde distintas Áreas de Salud Pública de la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, se han venido desarrollando diferentes actividades encaminadas a fomentar el hábito del desayuno, principalmente en la edad escolar,



Protocolo de Valoración Nutricional del Menú Escolar

por ser ésta una etapa de vital importancia para la adquisición de hábitos saludables que acompañarán a la persona a lo largo de toda su vida.

2.a. La campaña de desayunos saludables: "1º DESAYUNA, DESPUÉS CÓMETE EL DÍA", tiene los siguientes objetivos:

- **OBJETIVO GENERAL**

- Fomentar el desayuno saludable en la comunidad escolar de la Comunidad de Madrid.

- **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Que los escolares de primer ciclo de Educación Primaria identifiquen en qué consiste un desayuno saludable y su importancia para la salud y practiquen un desayuno saludable.

- Que los alumnos de segundo ciclo de Educación Primaria conozcan las funciones de los nutrientes básicos aportados a través del desayuno saludable mediante el desarrollo de una actividad lúdico-física.

- Que los alumnos de tercer ciclo de Educación Primaria aprendan a diseñar un desayuno saludable, evitando reproducir mitos y creencias erróneas en alimentación.

- Que los profesores y las familias adquieran los conocimientos necesarios para reforzar en los escolares un desayuno saludable.

- **POBLACIÓN DIANA:** La población diana en esta campaña son:

- Escolares de primer a sexto curso de Educación Primaria de los centros educativos de la Comunidad de Madrid.

- Profesorado de los cursos de Educación Primaria e Infantil de los centros educativos de la Comunidad de Madrid.

- Padres y madres de alumnos de Educación Primaria y Educación Infantil de la Comunidad de Madrid.

2.b. Actividades educativas dirigidas a los alumnos.

Las actividades se han planificado según los distintos ciclos educativos para lograr una mejor adecuación a la edad del escolar y complementar los conocimientos sobre el hábito del desayuno con otros conceptos relacionados como son la práctica de actividad física o la desmitificación de errores en alimentación:

- 1º ciclo: Se realizará la práctica del desayuno.

- 2º ciclo: Se realizará una sesión lúdico-formativa a través del desarrollo de una gymkhana.

- 3º ciclo: Se realizará una sesión educativa en la que los alumnos deberán diseñar su propio desayuno.



La campaña de desayunos saludables:
"1º DESAYUNA, DESPUÉS CÓMETE EL DÍA"



La campaña de desayunos saludables: "1º DESAYUNA, DESPUÉS CÓMETE EL DÍA"

3. Taller-exposición nutrición, actividad física y prevención de la obesidad. El objetivo de esta iniciativa pedagógica dirigida a la población infantil, que se lleva a cabo en colaboración con la Fundación de Industrias de Alimentación y Bebidas (FIAB) y los distintos Ayuntamientos de la Comunidad, es fomentar en los escolares madrileños hábitos de vida saludables basados en una alimentación equilibrada y en la práctica regular de actividad física.

Se trata de una experiencia pionera en la Comunidad de Madrid con la que se pretende influir correctamente en los comportamientos alimentarios de los niños desde las escuelas.

Este taller-exposición es itinerante y tiene carácter didáctico, actividades, juegos y multimedia.

Los materiales, contenidos, metodología y diseño de la Exposición están supervisados y avalados por un Consejo Asesor de Expertos formado por nutricionistas, educadores, psicopedagogos y representantes de la industria alimentaria española.

Está dirigido a los alumnos de primer ciclo de primaria (6-9 años). El número de niños en cada grupo es de 50 a 60 y la duración de la visita entorno a 60-70 minutos.

El eje principal del taller-exposición lo conforman unos paneles informativos a través de los cuales los más pequeños aprenderán una serie de trucos divertidos que les ayudarán a vivir de una forma más sana. Unos simpáticos personajes -Alcachofi, Equilibrador, Bebo y Atlético- actúan como narradores de los mismos y conducen a los niños por las actividades, juegos y multimedias del taller.

Esto permite una participación interactiva de los menores, lo que los convierte en los verdaderos protagonistas de la actividad y los ayuda a retener con facilidad los mensajes transmitidos.

3.a. Descripción de los paneles.

- ¿Qué es el alimento?: A través de este panel, se explica a los niños el origen y procedencia de los distintos tipos de alimentos (animales, vegetales y minerales).
- ¿De qué me alimento? y ¿cuánto me alimento?: No hay alimentos buenos y alimentos malos; lo importante es comer de todo, de forma equilibrada, sin abusar de ninguno de ellos. La pirámide nos da un ejemplo de todo lo que tenemos que comer y en qué cantidad.

Taller exposición nutrición, actividad física y prevención de la obesidad



Panel "¿Qué es el alimento?"



Panel "¡Vida Activa todos los días!"

- ¿Cómo me alimento?: En esta sección se enseña a los menores el funcionamiento del aparato digestivo y se les plantea una actividad en la que tienen que reconstruirlo parte por parte, a modo de un puzzle. Se explica a los niños las misiones de cada elemento del aparato y sus funciones y la importancia de los hidratos de carbono, las grasas, las proteínas, las vitaminas y los minerales, entre otros, para estar llenos de energía y crecer fuertes y sanos.
 - ¡Vida Activa todos los días!: En el panel ¡Vida Activa todos los días! los escolares aprenden lo importante que es el ejercicio físico para equilibrar la energía que ingerimos y la que gastamos y muestra sencillos ejemplos para ser más activos cambiando algunos de nuestros hábitos de vida.
 - ¿Cuándo me alimento? y Buenas Costumbres: Este panel explica a los escolares la importancia de realizar cinco comidas al día. A través de relojes y dibujos, se muestra cómo llevar un orden adecuado de alimentación a lo largo del día.
- Por otra parte, se recomiendan ciertas “buenas costumbres” basadas en la alimentación, la higiene y la práctica regular de ejercicio físico.
- Diez trucos para una vida sana: En el último panel se presenta un mural que, a modo de resumen, incluye el siguiente decálogo para llevar una vida sana:
 - Desayuna todos los días.
 - Come alimentos distintos durante el día.
 - Bebe un motón.
 - Come 5 frutas y verduras a lo largo del día.
 - Modera el consumo de grasas, azúcar y sal.
 - Disfruta comiendo, ¡comer es divertido!.
 - Muévete... haz ejercicio todos los días.
 - Además, sé limpio.
 - Y duerme lo necesario.
 - El secreto: una alimentación variada, equilibrada y suficiente + ejercicio físico.



Panel "10 trucos para una vida sana"

3.b. Juegos y Actividades Multimedia.

Los escolares disponen de diferentes actividades multimedia que les enseñan las ventajas de llevar una alimentación equilibrada y practicar ejercicio físico.

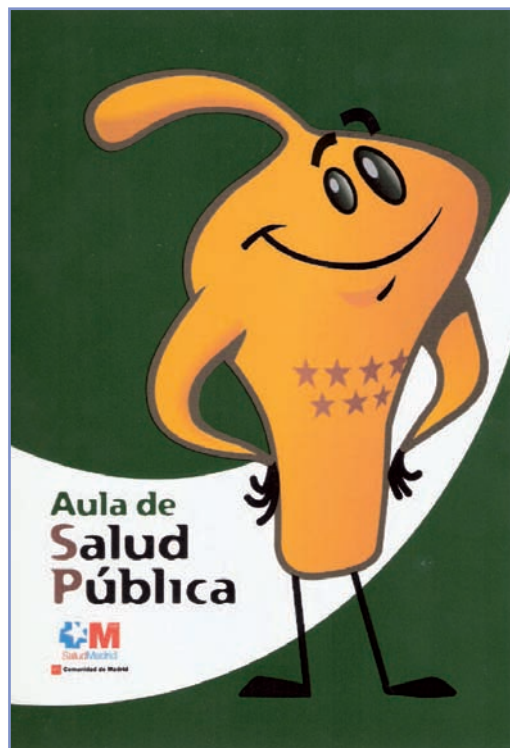
Dentro de las actividades que se desarrollan hay varios puntos multimedia en los que los escolares podrán informarse con sencillos juegos. Es el caso del multimedia "Día a Día", a través del cual a nuestro protagonista "Rodrigo" se le dan distintas opciones a lo largo de la jornada, en lo referente a comida, bebida y ejercicio. Dos indicadores situados en la pantalla, uno de 'salud' y otro de 'energía', mostrarán las opciones correctas para finalizar la jornada de una forma sana y llena de energía.



Juegos y Actividades Multimedia

4. Aula de salud pública. Otra de las actividades que se realizan en el ámbito escolar, aunque fuera del aula del centro educativo, es la participación de los escolares en el Aula de Salud Pública. Este Aula de la Dirección General de Salud Pública y Alimentación, que fue inaugurada en abril de 2007 pretende, a través de 6 talleres lúdico-formativos, acercar distintos aspectos de la Salud Pública a niños de entre 6-10 años. De estos talleres, dos han sido diseñados desde la Subdirección General de Alimentación con el objetivo de fomentar hábitos alimentarios saludables entre los escolares:

- Taller sobre alimentación y actividad física. "Busca tu equilibrio saludable".
- Taller sobre la importancia de un desayuno saludable.



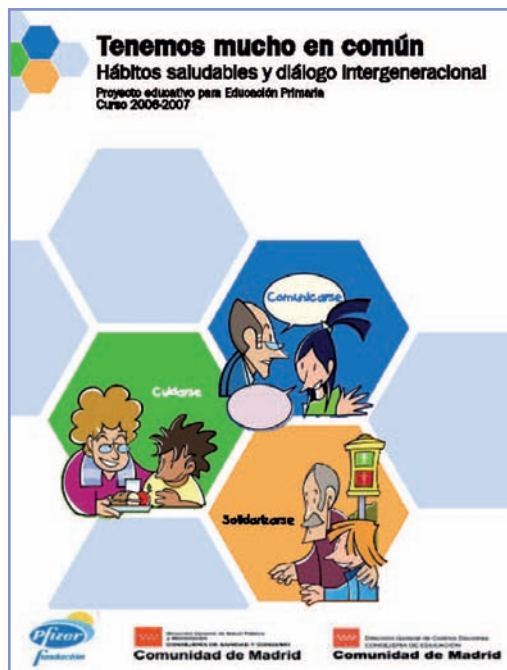
Aula de salud pública



Taller "Busca tu equilibrio saludable"



Taller sobre la importancia de un desayuno saludable



Proyecto "Tenemos mucho en común"

4.a. Taller sobre alimentación y actividad física "busca tu equilibrio saludable". Este taller tiene como objetivo conocer en qué consiste una alimentación saludable, los beneficios de mantener una vida activa y la importancia del equilibrio entre ambos para conseguir un buen estado de salud.

Desarrollo de la actividad.

- Breve presentación del tema y un recorrido teórico por los paneles del taller.
- Los escolares "diseñarán" uno de sus días de colegio eligiendo entre una serie de fichas que representarán las actividades que desarrollan en ese día y el menú que toman.
- Objetivo del juego: lograr que las dos columnas de fichas (la de actividades y la de comidas) queden con la misma altura, lo que significa que habrán equilibrado la ingesta calórica con el gasto energético.

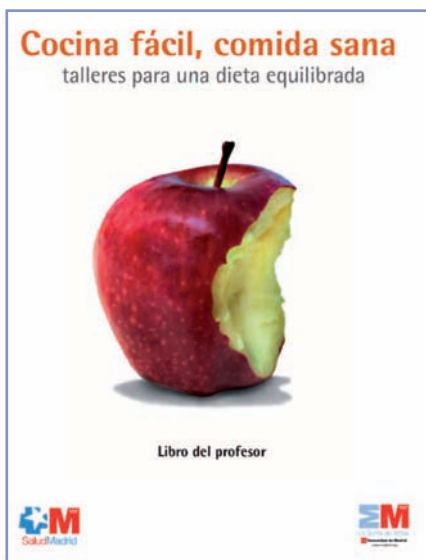
4.b. Taller sobre la importancia de un desayuno saludable. El objetivo es que los escolares identifiquen en qué consiste un desayuno saludable y su importancia para la salud.

Desarrollo de la actividad.

- Breve presentación del tema y un recorrido teórico por los paneles del taller.
- Tras esto, se pregunta a los niños acerca de su desayuno (si desayunan o no, qué toman en cada desayuno, cuánto tiempo le dedican, si lo varían o no, etc.) indicándoles los errores que puedan cometer así como los hábitos más adecuados.
- Por último, pasarán a realizar un puzzle que les va a mostrar distintas posibilidades de desayunos para tres días de la semana.

5. Tenemos mucho en común. En este proyecto, realizado en colaboración con la Fundación Pfizer y la Consejería de Educación, se plantean como objetivos generales:

1. Reflexionar, informar y promocionar hábitos de vida saludables en Educación Primaria.
2. Prevenir enfermedades, como la obesidad y el sobrepeso, mediante el diálogo intergeneracional.
3. Promover la implicación de los mayores, como personas activas, en los centros docentes en Educación Primaria para potenciar la vinculación familiar.
4. Extender el trabajo en común entre abuelos y niños a la comunidad aprovechando el potencial de asociaciones de gente mayor activa.
5. Crear un club de hábitos saludables en los centros docentes como punto de conexión entre niños y abuelos con el resto de la comunidad.



Proyecto “Cocina fácil comida sana”

Ámbito familiar y comunitario

Los hábitos alimentarios de los niños se forman en la familia y posteriormente se van consolidando mediante los contactos y las relaciones en el medio comunitario.

En cualquier caso, el estilo de vida de los padres y la forma en que ejercen su función tienen una gran importancia para adquirir hábitos alimentarios saludables.

Por este motivo es importante realizar intervenciones dirigidas a informar a la población sobre el impacto positivo que, para su salud y la de su familia, tienen una alimentación equilibrada y la práctica regular de actividad física.

1. Actividades de formación: Proyecto “Cocina fácil comida sana”.

METODOLOGÍA

- El curso consta de cuatro talleres teórico-prácticos de 2 horas y media cada uno.
- En cada taller se realiza una exposición teórica de los conceptos básicos del contenido del taller y posteriormente actividades prácticas y participativas que ayudan a aplicar los conocimientos aprendidos a la vida real.

CONTENIDOS DE LOS TALLERES

- Taller 1: Descubriendo los nutrientes.
- Taller 2: La cocina sana, sencilla y rápida.
- Taller 3: Utiliza la pirámide de los alimentos en tu cocina.
- Taller 4: Planificación de menús equilibrados y rápidos.

2. Recomendaciones nutricionales. Se han diseñado y puesto en práctica diversas actividades dirigidas a realizar entre la población general diversas recomendaciones para mejorar sus hábitos alimentarios.

- En colaboración con el Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid, se ha elaborado un Cartel y un folleto que se ha distribuido en las 2800 oficinas de farmacia de la Comunidad.

Con este cartel, los farmacéuticos pueden promocionar la alimentación saludable, dando a los consumidores que acuden a la oficina de farmacia, unas pautas correctas para mejorar el estilo de vida.

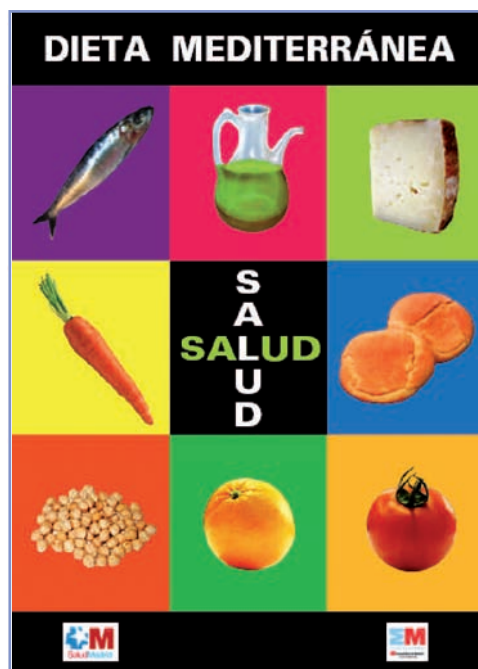
- Promoción de dieta mediterránea,** para ello se han editado 8.000 carteles y 50.000 folletos que se han distribuido en colegios, centros de atención primaria y restauración, con el fin de promocionar la dieta mediterránea entre los consumidores madrileños, indicando los beneficios de ésta para la salud.

En el folleto, se explica qué entendemos por dieta mediterránea, qué características tiene, cuáles son los beneficios que aporta para nuestra salud y qué alimentos la constituyen.

Además, se incluye la pirámide nutricional y se formula lo que podría ser el decálogo de la dieta mediterránea.

3. Divulgación. Generalmente la información que la población recibe en materia de alimentación y nutrición, es superficial incluso en algunos casos aún, sin ser deliberadamente, puede resultar engañosa. Por este motivo, desde la educación nutricional, es necesario realizar una tarea de información para que el consumidor informado adecuadamente decida dirigir sus actos de compra y consumo hacia aquellos alimentos que les aportan los nutrientes necesarios para mantener su salud.

Cartel "10 Recomendaciones para una Alimentación realmente Saludable"



Cartel "Promoción de dieta mediterránea"

Folleto "Promoción de dieta mediterránea"

¿Cuál podría ser el decálogo de la dieta mediterránea?

- 1 Consumir alimentos vegetales en abundancia: frutas, verduras, hortalizas, legumbres y frutos secos. Se recomienda consumir cinco raciones de frutas y verduras al día.
- 2 Los cereales: pan, pasta, arroz y sus productos integrales, son alimentos imprescindibles por su alto contenido en hidratos de carbono complejos y deben consumirse diariamente.
- 3 Utilizar el aceite de oliva como grasa de elección en la elaboración y preparación de todo tipo de platos.
- 4 Consumir pescado regularmente y huevos con moderación.
- 5 Consumir diariamente una cantidad moderada de productos lácteos.
- 6 Consumir ocasionalmente carnes rojas y a ser posible formando parte de platos a base de verduras y cereales.
- 7 Preferencia por alimentos poco procesados, frescos y elaborados para realzar su sabor, aroma, color y textura.
- 8 La fruta fresca debería ser el postre habitual, y reservar los dulces y postres para ocasiones especiales.
- 9 El agua es esencial en nuestra dieta. El vino es un alimento tradicional en la dieta mediterránea pero debe tomarse con moderación y siempre con las comidas.
- 10 Llevar una vida activa realizando ejercicio físico diariamente contribuye a mantener un peso adecuado e incrementar los beneficios de este tipo de alimentación.

DIETA MEDITERRÁNEA

SALUD

¿Qué entendemos por dieta mediterránea?

La dieta mediterránea es una forma de alimentación basada en un elevado consumo de cereales, frutas, verduras, hortalizas y legumbres, incluyendo los pescados y el aceite de oliva como fuente principal de grasas y con bajo consumo de carnes y grasas saturadas, todo ello en un entorno de hábitos saludables: actividad física y ocio al aire libre.

Es un buen ejemplo de dieta variada, nutritiva, apetecible y saludable, que además ayuda a prevenir enfermedades crónicas relacionadas con la alimentación.

¿Qué características tiene la dieta mediterránea?

- Bajo contenido en grasas saturadas y proteínas de origen animal.
- Consumo elevado de grasas insaturadas procedentes principalmente del aceite de oliva, rico en ácido oleico (ácido graso monoinsaturado) y de los pescados azules ricos en ácidos grasos omega 6 y omega 3 (ácidos grasos poliinsaturados).
- Rica en hidratos de carbono procedentes de los cereales.
- Alto contenido en fibra, vitaminas, minerales y otros antioxidantes presentes en todo tipo de frutas, frutos secos, verduras y legumbres.
- Utilización de técnicas culinarias sencillas como son las ensaladas, el hervido y los asados con aceite de oliva.

¿Qué beneficios nos aporta la dieta mediterránea?

La fibra procedente de cereales, leguminosas, frutas y verduras tiene un efecto beneficioso favoreciendo el tránsito intestinal; y en general contribuye a equilibrar el perfil calórico de la dieta. Las vitaminas, minerales y antioxidantes se relacionan con un menor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer.

El aceite de oliva, el pescado azul y los frutos secos reducen el nivel de colesterol, previniendo el riesgo cardiovascular.

¿Qué alimentos constituyen la dieta mediterránea?

- Los alimentos frescos, en su forma natural y de temporada.
- Las legumbres (lentejas, judías, garbanzos) muy características de nuestra gastronomía.
- Los alimentos ricos en fibra, vitaminas y minerales como las frutas y verduras, muchos de ellos en forma de ensaladas, cocinados o crudos.
- Los cereales (pan, pasta, arroz, patatas) como alimentos básicos.
- El pescado, preferentemente azul (caballa, atún, sardinas, etc.).
- Leche y productos lácteos como queso y yogur, en cantidad moderada.
- El aceite de oliva como grasa de elección en la elaboración y condimentación de todo tipo de platos.
- Frutos secos como las nueces, avellanas, almendras, etc.

Pirámide nutricional

Folleto "Promoción de dieta mediterránea"

En esta línea de trabajo, y para difundir los conocimientos nutricionales avalados por los consensos de las comunidades científicas, en colaboración con distintas entidades y fundaciones se ha elaborado material editorial, para divulgación a consumidores en general y a grupos específicos de población, algunos ejemplos de estos materiales son:

- **Folleto sobre Etiquetado Nutricional:** Encaminado a la promoción de una mejor comprensión del etiquetado y más concretamente del etiquetado nutricional, como una herramienta muy útil para el consumidor a la hora de comprender lo que está comiendo, poder diseñar su dieta en términos de nutrientes y cercana a la dieta variada, prudente y saludable o acercarse más a la dieta mediterránea.



Folleto sobre Etiquetado Nutricional

- **Guía para el control de peso de forma saludable:** Esta guía pretende mostrar conocimientos básicos en nutrición, que permitan comprender pautas y recomendaciones sencillas que contribuyan a mantener un peso estable o perder peso de manera saludable.
- **Alimentación Infantil, lo que come hoy determinará su futuro:** Esta guía pretende ser una herramienta eficaz para padres, familiares y educadores responsables de la alimentación en esta etapa de la vida, que les proporcione información y conocimientos necesarios para llevar una alimentación adecuada y un estilo de vida saludable.
- **Elaboración de monografías:** Se han elaborado y difundido monografías de distintos grupos de alimentos para informar al consumidor sobre el valor nutricional y las características de ese grupo de alimentos (pan y los cereales), y en otros caso además, para informar sobre las variedades de productos que se incluyen en esa categoría, tal es el caso de los alimentos precocinados.

Guía "Control de peso de forma saludable"





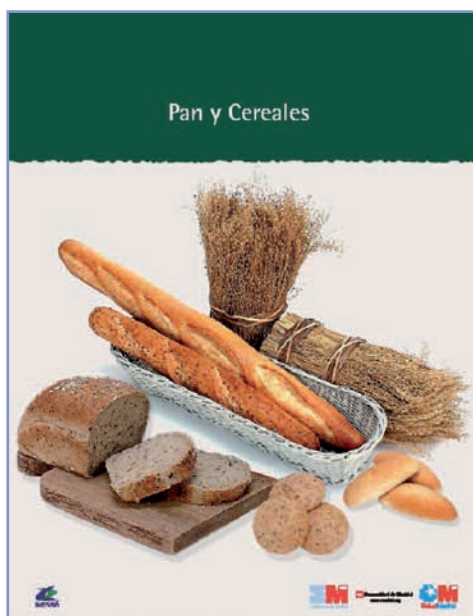
Guía "Alimentación Infantil, lo que come hoy determinará su futuro"

Ámbito profesional

1. Profesionales de la educación. Se ha promocionado y difundido la colección "Nutrición y Salud" como monografías de referencia **para educadores** en distintos temas de actualidad. Los títulos de las monografías son los siguientes:

- La dieta equilibrada, prudente o saludable.
- El desayuno saludable.
- Nuevos alimentos para nuevas necesidades.
- El agua en la alimentación (en publicación).
- Las alergias a los alimentos.
- El pescado en la dieta.
- El aceite de oliva y la dieta mediterránea.
- Frutas y verduras, fuente de salud.

Monografía "Pan y cereales"



Monografía "Alimentos precocinados"

Colección "Nutrición y salud"



2. Profesionales sanitarios.

- Los programas de atención primaria tienen, entre sus acciones, las relativas a promoción de la salud, que incorporan el consejo dietético como medio informativo de protección frente a la enfermedad y como instrumento terapéutico en patologías específicas. Por este motivo, para facilitar la tarea del profesional sanitario, se ha elaborado una **Guía de Orientación Nutricional en Atención Primaria**, orientada a **profesionales sanitarios** de atención primaria para facilitar la divulgación de pautas nutricionales a la población que acude a consulta.

Los profesionales de la salud tienen un claro ascendiente sobre la población: son escuchados, se les concede credibilidad y sus recomendaciones se producen en un contexto muy adecuado, el centro de salud.

- Estudio sobre ingredientes más utilizados en los productos comercializados para el control de peso, ¿realidad o ficción?

Este manual pretende dar a conocer los diferentes tipos de ingredientes que se incorporan a productos que se comercializan para el control de peso y su efecto sobre el organismo, su posible utilidad con ese fin y los riesgos que pueden suponer para la salud. Además, se incorporan una serie de recomendaciones que permiten llevar una alimentación equilibrada y adaptada para facilitar el seguimiento de dietas hipocalóricas.

Uno de los grandes retos de la nutrición en salud pública es conseguir que la población ponga en práctica, mediante sus hábitos alimentarios, los numerosos conocimientos que a lo largo de la historia ha ido acumulando la ciencia de la nutrición.

La dieta puede ser un valor determinante en la reducción del riesgo de determinadas enfermedades y, por ello, es muy importante que los programas de promoción de la salud y educación nutricional se impliquen muy activamente para reforzar los hábitos de vida saludables modificando los negativos y conseguir que la sociedad camine en la dirección correcta

Pese a las limitaciones de los programas de educación nutricional, las posibilidades de influir cambios son grandes y constituyen un buen medio para mejorar los estilos de vida de la población.



Manual "Estudio sobre ingredientes más utilizados en los productos comercializados para el control de peso, ¿realidad o ficción?"

Bibliografía

1. Educación nutricional en el medio comunitario: A propósito de una iniciativa en el Parque Infantil de Navidad de Bilbao. Aranceta, J., Pérez, C., Viladrich, M., Santolaya, J. (1989). Evaluación de una campaña de promoción del desayuno en el medio escolar. Arch Pediatr 40:25-8.
2. Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones. Serra Majen, LL., Aranceta Bartrina, J., Mataix Verdu, J. (1995). Ed. Masson.
3. Promoción de la Salud. Glosario. Organización Mundial de la Salud. Madrid Ministerio de Sanidad y Consumo. (1999).
4. Aranceta, J., Pérez Rodrigo, C., Domínguez, I., Gerekiz, A., Angulo, E., Urrutia, A., Ricondo, Z., Correcher, T. (2000). Revista Española de Nutrición Comunitaria 6(1); 14-16.
5. Cambios en los hábitos de alimentación durante la infancia: una visión antropológica. Busdiecker, S., Castillo, C. y Salas, I. (2000). Revista Chilena de Pediatría; 71, 1,5-11.
6. Evaluación de un programa de información en nutrición al consumidor. Romper, A., Zacarías, I., Olivares, S y Hertrampf, E. (2003). Revista Chilena de Nutrición; 30, 1, 43-51.
7. Publicidad de Alimentos y Conductas Alimentarias en escolares de 5º a 8º básico. OLIVARES, Sonia, YANEZ, Rossana y DIAZ, Nora. Rev. chil. nutr., abr. 2003, vol.30, no.1, p.36-42. ISSN 0717-7518.
8. Actualización en Nutrición. Carlos Iglesias Rosado y Carmen Gómez Candela. Nutrición en Salud Pública. (2004) Ed. Sanitaria 2000.
9. Encuesta nutrición infantil. Datos 2002. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid (2005).
10. Nutrición, Actividad Física y Prevención de la obesidad. Estrategia NAOS (2005).
11. SIVFRENT jóvenes y adultos. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid (2005).
12. Hábitos Alimentarios. Documento Técnico nº 108. Datos 2006. Consejería de Sanidad. (2006).
13. Información Nutricional y Conducta Alimentaria. XVII Semana de la Investigación Científica. Avances en la Investigación Científica en el CUCBA. De la Torre-Ibarra, C., López-Espinoza, A. (2006).
14. Instituto Carlos III. Ministerio de Sanidad y Consumo. (2007). Ed. Panamericana. (2007).
15. Prevención de la Obesidad y Promoción de Hábitos Saludables. IV Foro de Pediatría de Atención Primaria de Extremadura. Mesa Redonda. Gutiérrez Moro, M.C.
16. Ministerio de Sanidad y Consumo. Alimentación en la Infancia. Protección de la Salud.

The background features a stylized, light blue DNA double helix structure on the right side, spiraling upwards. To the left of the helix, there are several dark blue circles of varying sizes and thin, intersecting lines, creating a geometric or molecular-like pattern. The overall color palette is light blue and white.

Capítulo 2

Avances en el conocimiento
de las bases genéticas
de la obesidad

Capítulo 2

Avances en el conocimiento de las bases genéticas de la obesidad

Dolores Corella, Olga Portolés

Unidad de Epidemiología Genética y Molecular.

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Ciencias de la Alimentación, Toxicología y Medicina Legal. CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición.

Facultad de Medicina. Universidad de Valencia, Valencia

Resumen

Tras unos años en que la obesidad era fundamentalmente considerada un problema estético y no despertaba un especial interés, se asiste a una creciente preocupación científico-político-social por la misma. Este interés ha impulsado las investigaciones sobre los factores de riesgo que desencadenan la obesidad, con el objeto de poder actuar más eficazmente sobre la misma. Además de las investigaciones sobre los hábitos alimentarios, el sedentarismo, y otros factores ambientales, se ha profundizado en el conocimiento de las bases genéticas de la obesidad. En la mayoría de los casos, la obesidad tiene una base multigénica compleja que dificulta las investigaciones, sin embargo recientemente se han realizado importantes avances en su conocimiento. Se revisarán los principales genes implicados en el desarrollo de la obesidad en la población general, sus variantes genéticas, y el nivel de consistencia de los diferentes estudios en distintas poblaciones. Entre ellos, destacamos dos genes: el gen FTO (fat mass and obesity associated) situado en el cromosoma 16, y gen INSIG2 (insulin-induced gene 2), situado en el cromosoma 2.

En el primer caso, las asociaciones del rs7566605, situado unas 10 kilobases antes del gen INSIG2, han sido más controvertidas; mientras que en el segundo caso, las asociaciones del rs9939609 en el gen FTO, parecen ser más consistentes. Otros ejemplos de genes y variantes genéticas para las que recientemente se han obtenido resultados de interés en el conocimiento de la genética de la obesidad, son el gen de la perilipina y los genes APOA2 y APOA5.

Introducción

El alarmante aumento de la prevalencia de obesidad en el mundo, unido al elevado coste sanitario que representa debido a las enfermedades asociadas a la misma (diabetes, hipertensión, dislipemias, aterosclerosis, cardiopatía isquémica, cáncer etc.) ha llevado a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a considerarla no sólo la Epidemia del Siglo XXI, sino a promover estrategias internacionales para frenar su avance. Por ello, tras unos años en que la obesidad era fundamentalmente considerada un problema estético y no despertaba un gran interés;

recordemos que la obesidad no ha sido considerado factor de riesgo cardiovascular independiente por la Asociación Americana del Corazón hasta 1998 (1), se asiste a una creciente preocupación científico-político-social por la misma. Siguiendo las directrices de la OMS, desde el Ministerio de Sanidad se ha puesto en marcha la llamada estrategia para la Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad (eNAOS) en España. Se trata de una iniciativa multifactorial que inicialmente está centrando sus esfuerzos en la modificación de los hábitos alimentarios y aumento de la actividad física para conseguir un consumo de alimentos más saludable acompañado de un aumento de la actividad física (2). Sin embargo, hay que tener en cuenta que la obesidad, como trastorno resultante de una desproporción entre la ingestión calórica y el requerimiento energético, es una enfermedad muy compleja, a la que contribuyen tanto factores ambientales, entre los que se encontrarían fundamentalmente la dieta y la actividad física, como factores genéticos.

Por ello, para conseguir una mejor prevención y tratamiento de la obesidad, es necesario profundizar en el conocimiento de las bases genéticas de la misma y de su interacción con los factores ambientales. La investigación de la genética de la obesidad no es tarea fácil ya que salvo en algunos casos minoritarios de obesidad monogénica u oligogénica síndrómica (3), en la mayoría de las situaciones, la obesidad parece poseer un carácter poligénico con múltiples genes implicados, con interacciones entre ellos y con el ambiente. Tampoco de manera global se ha podido cuantificar la contribución genética y ambiental a la obesidad. Así, existen trabajos que valoran la contribución genética en un 70%; mientras que para otros autores, la contribución genética tan sólo representaría un 30%. Ante esta diversidad de estimaciones, se acepta un 50% de contribución de cada uno de los factores, ya que no existe un conocimiento preciso sobre ello (4).

En la Figura 1 se muestra un modelo de interacción entre factores genéticos (medidos a través de variaciones en genes candidatos clave implicados en distintos procesos fisiológicos relacionados con la obesidad) y factores ambientales. Se entiende por factor ambiental todo factor no genético. Entre los principales factores ambientales relacionados con la etiología de la obesidad se encontrarían la dieta, el sedentarismo, el consumo de tabaco y alcohol, el estrés, el consumo de fármacos, los factores socioeconómicos y la asistencia sanitaria.

Todavía son necesarios muchos estudios para llegar a establecer la contribución relativa de cada uno de ellos y cómo se potencian o minimizan sus efectos a través de sus posibles interacciones.

¿En la era de la genómica nutricional en la que se está investigando para obtener nuevo conocimiento que permita la personalización de las dietas según el genotipo de cada individuo (5), se podrán diseñar dietas para prevenir la obesidad o para tratar la misma, basadas en el genoma? La respuesta a esta pregunta todavía se tiene que formular como una expectativa de futuro, ya que actualmente se está en una fase de generación de conocimiento y de obtención de evidencia científica. Se han realizado múltiples estudios en animales de experimentación en los que se demuestra que la supresión de algún gen es capaz de conferir resistencia a la obesidad ingiriendo la misma cantidad de alimentos que el animal sin modificación genética que se utiliza como control (6-10). En una reciente revisión sobre el tema, Rankinen et al (11) han catalogado 244 genes cuya modificación genética en ratones es capaz de causar un aumento o una disminución de la adiposidad o de otras medidas relacionadas con la obesidad en ratones. En la Tabla I (página 56) se presenta una selección de dichos genes, para los cuales los resultados han sido más consistentes.

FIGURA 1 | Modelo de interacción entre la contribución genética y ambiental en la etiología de la obesidad.



En la Tabla se refleja el nombre del gen en el ratón, su homólogo humano, su localización cromosómica en humanos y el efecto que tiene la supresión de dicho gen en cuanto a la aparición o no de obesidad inducida por dieta en comparación con ratones control.

En humanos, también existen múltiples estudios epidemiológicos en los que se muestra que variaciones en algún gen candidato se relacionan con menor riesgo de obesidad, o un mejor perfil antropométrico (12-15). Aunque uno de los mayores problemas de los estudios epidemiológicos en humanos es la falta de replicación, debido a la mayor complejidad en el control de las variables a experimentar que en los ratones, estos resultados junto con la evidencia experimental en modelos animales, contribuyen a apoyar

la hipótesis que sugiere la existencia de una distinta respuesta a la dieta, y riesgo de obesidad, en función del genotipo de los individuos en determinados genes candidatos.

Genes implicados en la obesidad monogénica

Hasta ahora, unos 200 tipos de obesidad humana se han asociado a variaciones de un solo gen (3, 16, 17). Estos casos que presentan patrones de herencia mendeliana están caracterizados por fenotipos muy severos, muchos de los cuales se suelen presentar ya desde la infancia y, frecuentemente se asocian a alteraciones del comportamiento (algunas veces se presentan de manera concomitante algunas formas de retraso mental), y otras alteraciones en el sistema endocrino.

Tabla I. Efecto sobre la obesidad y su interacción con la dieta de supresiones de determinados genes en ratón y su homólogo humano

Gen de ratón	Cromosoma humano	Gen homólogo humano	Descripción del gen	Observaciones
<i>Acacb</i>	12q24.1	ACACB	Acetilcoenzima A carboxilasa beta	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Adrb3</i>	8p12-p11.2	ADRB3	Receptor adrenérgico, $\beta 3$	Incremento de obesidad en dieta alta en grasa
<i>Agtr2</i>	Xq22-23	AGTR2	Receptor de la angiotensina II, tipo 2	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Apoc3</i>	11q23.1-q23.2	APOC3	Apolipoproteína C-III	Incremento de obesidad en dieta alta en grasa
<i>Cart</i>	5q13.2	CART	Cocaine- y amfetamina-regulador	Incremento de obesidad en dieta alta en grasa
<i>Cav1</i>	7q31.1	CAV1	Caveolina 1	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Cond3</i>	6p21	CCND3	Ciclina D3	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Cnr1</i>	6q14-q15	CNR1	Receptor canabinoide 1	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Esrra</i>	11q13	ESRRA	Receptor relacionado con estrógenos	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Fabp5</i>	8q21.13	FABP5	Proteína de unión de ácidos grasos 5	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Ghrf</i>	3p26-p25	GHRL	Grelina	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Il1m</i>	2q14.2	IL1RN	Receptor de la interleuquina (antagonista)	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Lep (ob)</i>	7q31.3	LEP	Leptina	Menor adiposidad
<i>Lepr</i>	1p31	LEPR	Receptor de la leptina	Incremento de obesidad en dieta alta en grasa
<i>Lipe</i>	19q13.2	LIPE	Lipasa sensible a hormonas	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Nr1i3</i>	1q23.3	NR1I3	Receptores nucleares 1, grupo I, miembro 3	Pérdida acelerada de tejido adiposo bajo dieta hipocalórica
<i>Plin</i>	15q26	PLIN	Perilipina	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Ppard</i>	6q21.2-p21.1	PPARD	Receptor activado por proliferadores de peroxisomas (Delta)	Mayor desarrollo de obesidad en dieta rica en grasa
<i>Serpine1</i>	7q21.3-q22	SERPINE1	Serina (o cisteína) inhibidor de proteasas	Resistente a obesidad inducida por dieta
<i>Ucp1</i>	4q28-q31	UCP1	Proteína desacopladora mitocondrial 1	Resistente a obesidad inducida por dieta

El conocimiento inicial de los genes implicados en estas manifestaciones extremas de la obesidad humana, vino precedido de su estudio genético en modelos animales. De todos estos síndromes, el más conocido y común es el denominado Síndrome de Prader-Willi, que se caracteriza por disminución de la actividad fetal, hipotonía, retraso mental, baja estatura, hipogonadismo y obesidad (18). Su incidencia estimada es de 1 cada 25.000 nacimientos. Este síndrome se atribuye a la ausencia de un fragmento de ADN situado en el segmento 15q11.2–q12 en el alelo procedente del padre, ya sea por delección de dicho fragmento crítico (80% de los casos), o por pérdida completa del cromosoma 15 paterno, con la presencia de dos cromosomas maternos (disomía uniparental materna). Actualmente se está investigando la posible implicación de los genes que pueden estar presentes en el fragmento crítico del cromosoma 15 paterno, pero todavía no se dispone de resultados concluyentes (17). Otro síndrome caracterizado por obesidad monogénica es el denominado síndrome de Bardet-Biedl (BBS). Su incidencia es menor de 1 cada 100.000 nacimientos, y se caracteriza por obesidad central, retraso mental, extremidades dismórficas e hipogonadismo. Su genética es compleja, ya que se han localizado genes en distintos cromosomas, entre ellos los siguientes: 11q13.1 (*BBS1*); 16q13 (*BBS2*); 3p13-p12 (*BBS3*); 15q22.3-q23 (*BBS4*); 2q31 (*BBS5*); 4q27 (*BBS7*) y 14q32.1 (*BBS8*). En el síndrome de Alström, caracterizado por una transmisión autonómica recesiva, tiene lugar obesidad en la infancia asociada con hiperinsulinemia, hiperglucemia crónica, déficits neurosensoriales, cardiomiopatía asociada, baja estatura y un retraso moderado en el desarrollo. Genéticamente se ha atribuido a mutaciones en el gen denominado *ALMS1*, situado en 2p13.1. Existen otras muchas formas de obesidad monogénica sindrómica con genes específicos asociadas a las mismas y cuyo impacto no parece relevante en otras formas de obesidad (3, 18).

Sin embargo, a partir de algunas manifestaciones monogénicas de la obesidad, se han conseguido identificar genes clave, que no están solamente implicados en manifestaciones monogénicas severas, sino que variaciones que afectan menos su funcionalidad, pueden estar presentes con elevada frecuencia en la población general y contribuir en cierta forma a aumentar el riesgo de obesidad. Entre estos genes destacamos el gen de la leptina (*LEP*) y el gen del receptor de la leptina (*LEPR*).

En 1977, el grupo de O'Rahilly S (19) en la Universidad de Cambridge, Reino Unido, publicó el caso de dos primos de origen paquistaní extremadamente obesos (una niña de 8 años con un peso de 86 kg, y un niño de 2 años, pesando 29 kg). Ninguno de estos niños tenía niveles detectables de leptina plasmática. En ellos se encontró una mutación en el gen denominado inicialmente *ob*, al ser caracterizado en ratones. Esta mutación provocaba que la proteína leptina estuviera truncada y no se secretara (17). La leptina es un péptido de 167 aminoácidos, con una secuencia señal de 21 aminoácidos que se escinde antes de que la leptina pase al sistema circulatorio. Su nombre procede del griego *leptos*, que significa delgado, y actúa como señal al cerebro, informando sobre el tamaño del tejido adiposo y actuando como factor saciante. En los roedores, particularmente en los ratones *ob/ob*, la administración central y periférica de leptina provoca una pérdida de apetito y una disminución del peso corporal mediada por una reducción del depósito de grasa. En los humanos con las mutaciones severas en el gen de la leptina, también se ha observado una intensa hiperfagia. El grupo de O'Rahilly S (20), también ensayó la administración de leptina en los niños con deficiencia, y observó que la inyección diaria de leptina provocó, tras dos años de tratamiento, una espectacular reducción del peso y de la masa de grasa, observando una importante reducción de la hiperfagia.

Además de las mutaciones en el gen de la leptina, existen casos de obesidad monogénica debida a mutaciones en el gen del receptor de la leptina. Los primeros casos se identificaron en una familia de origen argelino, con tres miembros afectados. Estas personas tenían una mutación que truncaba el receptor y lo hacía afuncional (21). Aunque los niveles de leptina circulantes eran elevados, ésta no ejercía su función al circular unida al ectodominio del receptor mutado. Por ello, el fenotipo de estas personas con mutaciones en el receptor de la leptina era similar al que presentaban las personas con mutaciones en el gen de la leptina. Trabajos anteriores habían demostrado que ratones con mutaciones en el receptor de la leptina presentaban insensibilidad a la leptina, hiperfagia, trastornos metabólicos, obesidad mórbida y alteraciones neuroendocrinas (18). Sin embargo, estas mutaciones que causan alteraciones tan sustanciales en los genes LEP y LEPR, son muy raras en la población general, siendo frecuente encontrar polimorfismos en dichos genes. Se han descrito distintos polimorfismos, cuya prevalencia presenta diferencias según las poblaciones, tanto en el gen LEP como en el LEPR, sin embargo no está clara su contribución en el riesgo de obesidad o medidas antropométricas. En un estudio reciente realizado en población española en el que hemos analizado el riesgo de obesidad asociado a dos variantes funcionales en dichos genes (el polimorfismo -2548G>A en el promotor de LEP, y el polimorfismo Q223R en el gen LEPR), no hemos encontrado asociación significativa del polimorfismo del promotor LEP con el riesgo de obesidad, pero en cambio, sí que hemos hallado un menor riesgo de obesidad asociado a la variante en el LEPR. Este estudio sería un ejemplo de cómo un gen inicialmente implicado en formas monogénicas de obesidad puede también tener un protagonismo en la obesidad poligénica, contribuyendo a explicar una pequeña parte de la variabilidad en la obesidad.

Cada día se están descubriendo más genes cuyas variaciones pueden asociarse a distintas variables relacionadas con la obesidad en la población general, en el siguiente apartado se revisarán con profundidad algunos de ellos.

Genes implicados en obesidad poligénica

El peso, la composición corporal y las reservas de energía están fuertemente regulados en los humanos y tienden a permanecer constantes en el tiempo a pesar de las fluctuaciones diarias en el balance energético. Sin embargo, el desequilibrio crónico entre ingesta y gasto energético puede conllevar a alteraciones en el peso y finalmente a obesidad. Este control se establece a través de una red compleja de sistemas fisiológicos que regulan el aporte de energía, el gasto y el almacenamiento de las reservas energéticas, que a su vez están determinados por la interacción entre múltiples genes implicados y factores ambientales. Tras unas décadas en las que las investigaciones genéticas de la obesidad se centraban fundamentalmente en genes candidatos cuyas proteínas eran conocidas, las modernas técnicas de análisis genómico basadas en microarrays, permiten realizar estudios de genotipados a gran escala, donde cientos de miles de variantes genéticas son analizadas simultáneamente, y de esta forma, encontrar asociaciones con genes para los que previamente no se conocía su implicación en la etiología de la obesidad, por lo que el conocimiento del número de genes implicados en la misma va creciendo paulatinamente desde distintas aproximaciones.

En una amplia revisión sobre genética de la obesidad publicada en 2006 por Rankinen et al (11), recopilaban ya 416 estudios centrados en 127 genes candidatos que habían reportado asociaciones significativas entre variaciones en diferentes genes y variables antropométricas relacionadas con la obesidad.

Este número se ha ido incrementando notablemente, pues cada año, el número de artículos publicados sobre variantes genéticas asociadas con la obesidad crece exponencialmente. Dado el amplio número de genes y variantes genéticas, nos centraremos solamente en algunos ejemplos más relevantes por su interés y actualidad. Las proteínas cuyos genes serán objeto de revisión con más detalle son las siguientes: perilipina (PLIN), apolipoproteína A-V (APOA5), apolipoproteína A-II (APOA2), fat mass and obesity associated (FTO) y gen INSIG2 (insulin-induced gene INSIG2). En cada uno de ellos se ha utilizado una aproximación diferente para llegar a la conclusión de su asociación con obesidad.

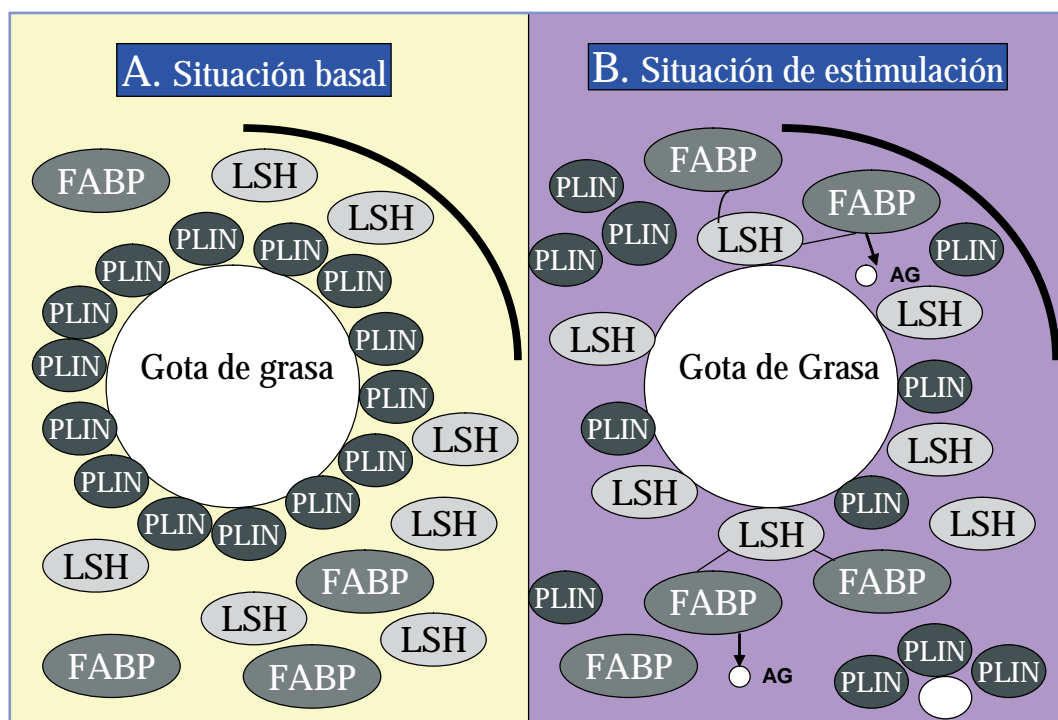
Gen PLIN

Las perilipinas son una familia de fosfoproteínas que se localizan de manera específica en la superficie intracelular de las gotas de lípidos, localización en la que precisamente tiene lugar la lipólisis. La mayor estrategia de almacenamiento de energía en el organismo es en forma de triacilglicéridos contenidos en el tejido adiposo blanco. En los momentos en que se requiere una gran cantidad de energía, como puede ser durante el ejercicio o durante el ayuno prolongado, las catecolaminas activan rápidamente la proteína quinasa (PKA) dependiente de AMPc y se obtiene como resultante la hidrólisis de los triacilglicéridos en glicerol y ácidos grasos libres. Los ácidos grasos libres son entonces utilizados como sustratos para la generación de ATP en diversos tejidos. Sin embargo, en distintas situaciones fisiopatológicas como la obesidad o la diabetes, los ácidos grasos libres circulantes se encuentran anormalmente elevados. Se ha sugerido que este aumento mantenido de los ácidos grasos libres circulantes en plasma está directamente relacionado con la resistencia a la insulina en animales obesos.

Aunque la regulación hormonal de la lipólisis ha sido ampliamente descrita, los mecanismos moleculares y celulares implicados en este proceso son prácticamente desconocidos. Recientemente se ha demostrado una importante contribución de las perilipinas en este proceso. Las perilipinas actuarían recubriendo las células grasas e inhibiéndolas del ataque de la lipasa sensible a hormonas (LSH), enzima que metaboliza las grasas (Figura 2-página 60). La perilipina es considerada pues como el guardián de la grasa. Si la perilipina permanece fuerte en la membrana del adipocito, actúa bloqueando la salida de la grasa al impedir la hidrólisis de los triglicéridos por la LSH.

De manera independiente dos equipos de investigadores de diferentes laboratorios (6, 7), demostraron que ratones transgénicos que no expresaron perilipina no acumularon grasa, debido a que tan pronto como es fabricada, es degradada por lipasa hormonosensible, cuya función bioquímica queda activada en forma constitutiva. Como resultado, la tasa metabólica basal de los animales fue considerablemente superior a la de los ratones normales. Observando también que estos ratones eran más delgados y resistentes a la obesidad inducida por dieta. Por otra parte, la deprivación de expresión de perilipina en cepas de ratones *Lepr db/db* (deficientes en receptor funcional de leptina), los cuales normalmente desarrollan obesidad y diabetes mellitus, impidió la aparición del fenotipo obeso en aquellos ratones a los que se le había eliminado el gen de la perilipina (6). Para investigar la importancia del gen de la perilipina en el desarrollo de la obesidad en humanos, una estrategia a seguir es identificar las posibles variantes genéticas que existan en dicho gen (localizado en 15q26.1), y realizar estudios de asociación entre dichas variantes genéticas y las variables relacionadas con obesidad. Nuestro grupo realizó dichos análisis en población mediterránea española, y caracterizó cuatro polimorfismos en dicho gen, que se denominaron PLIN1, PLIN4, PLIN5 y PLIN 6 (14).

FIGURA 2 | Representación de la localización y funcionalidad de la perilipina (PLIN) en la gota de grasa. En condiciones basales (Panel A), la perilipina se encuentra situada recubriendo la membrana de la gota de grasa, mientras que la lipasa sensible a hormonas (LSH), se encuentra en el citosol, junto con otras proteínas como la "fatty acid binding protein" (FABP). En condiciones del estímulo lipolítico (Panel B), tiene lugar una fosforilación de la perilipina y de la LSH, así como una traslocación de la LSH a la membrana de la gota lipídica, con el consiguiente desplazamiento de PLIN y la hidrólisis de los triglicéridos, liberándose ácidos grasos (AG).



En la Tabla II, se presentan las frecuencias genotípicas de cada una de estas variantes en población mediterránea española, así como su desequilibrio de ligamiento. En esta población mediterránea española pudimos observar que los polimorfismos PLIN1 (6209T>C) y PLIN 4 (11482G>A), en elevado desequilibrio de ligamiento ($D' = 0,96$; $P < 0,001$), se asocian con un menor índice de masa corporal (IMC) en mujeres de la población general.

Al realizar un estudio de casos y controles para estimar el riesgo de obesidad asociado a dichos polimorfismos, se encontraron asociaciones estadísticamente significativas

entre dichos polimorfismos y un menor riesgo de obesidad en mujeres. Para estimar el riesgo se calculó la odds ratio (OR) y su intervalo de confianza (IC) al 95%. Tras ajustar por posibles factores de confusión entre los que se incluyeron la edad, el consumo de tabaco, el alcohol, la actividad física y el nivel de estudios, el riesgo de obesidad asociado a la variante A del polimorfismo PLIN 4 (11482G>A) fue de $OR = 0,56$; IC al 95%: (0,36-0,89); $P = 0,016$. De esta forma, las mujeres portadoras de la variante A en dicho polimorfismo, poseen aproximadamente la mitad de riesgo de ser obesas que las mujeres homocigotas para el alelo más frecuente (alelo G).

Tabla II. Frecuencias genotípicas y desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos comunes en el gen de la perilipina (PLIN) en población mediterránea española

Genotipos	PLIN1 (6209T>C)		PLIN4 (11482G>A)		PLIN5 (13041A>G)		PLIN6 (14995A>T)	
	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
11	309 (40,8)	331 (42,4)	405 (52,5)	451 (57,7)	282 (36,2)	318 (40,5)	328 (44,6)	346 (44,7)
12	334 (44,1)	342 (43,8)	307 (39,8)	271 (34,7)	380 (48,7)	345 (43,9)	321 (43,7)	333 (43,0)
22	114 (15,1)	108 (13,8)	60 (07,8)	59 (07,6)	118 (15,1)	122 (15,5)	86 (11,7)	95 (12,3)

Desequilibrio de ligamiento entre las variantes: D; D' y (p)

PLIN1	–	0,159; 0,958 (p<0,001)	0,033; 0,149 (p<0,001)	0,085; 0,394 (p<0,001)
PLIN4	–		0,031; 0,191 (p<0,001)	0,078; 0,453 (p<0,001)
PLIN5				0,66; 0,320 (p>0,001)
PLIN6				–

D: Coeficiente de desequilibrio de ligamiento
D': Coeficiente de desequilibrio de ligamiento estandarizado

Diversos estudios en otras poblaciones de distintos continentes, también han encontrado que los polimorfismos en el gen PLIN se asocian con medidas antropométricas fundamentalmente en mujeres y no en hombres. Una explicación de dichas diferencias por género podría ser la mayor adiposidad que en general tienen las mujeres en comparación con los hombres. Posteriormente, nuestro grupo estudió si dicho polimorfismo, además de contribuir al riesgo de obesidad, podría tener alguna influencia en la predicción de las pérdidas de peso en obesos mórbidos sometidos a una dieta hipocalórica estándar durante un año. Se seleccionaron personas con un elevado grado de obesidad de la misma población mediterránea española, que acudieron a un servicio de endocrinología para perder peso. Estos obesos fueron sometidos durante un año a una dieta hipocalórica estándar, con controles de pérdida de peso cada tres meses. Tras la intervención dietética se conoció el polimorfismo de cada individuo, para que el resultado no influyera en la pérdida de peso,

y se observó que el polimorfismo PLIN 4 (11482G>A) influía significativamente en la pérdida de peso (22). En base a los resultados obtenidos se puede concluir que este polimorfismo actuaría de manera similar a un efecto tampón, ya que si bien en condiciones de dieta estándar actúa en cierta forma protegiendo a los individuos de alcanzar un exceso de peso, una vez ese sobrepeso se ha alcanzado, el polimorfismo actuaría dificultando una pérdida de peso. Son necesarios más estudios en ésta y otras poblaciones para caracterizar mejor los efectos de dicho polimorfismo y su posible relevancia en el consejo dietético.

Gen de la APOA5

El gen de la APOA5 se descubrió en el año 2001, mediante modelos bioinformáticos. A partir del análisis genómico comparado de las secuencias de distintas especies, el grupo de Pennacchio et al (23) encontró dicho gen en humanos, cuya proteína no fue conocida hasta después de describir el gen.

Dicho gen, localizado en el cromosoma 11q23, se encuentra próximo al bien caracterizado cluster de genes denominado APOA1/APOC3/APOA4. En dicho gen se han descrito distintos polimorfismos, muchos de ellos formando haplotipo. Los dos polimorfismos más estudiados, ya que se consideran como "tag" (indicadores) SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido) de dos haplotipos diferentes son: el polimorfismo -1131T>C en el promotor del gen, y el polimorfismo c.56C>G, que ocasiona un cambio de aminoácido S19W en la proteína. La prevalencia de estos polimorfismos varía según las poblaciones, pero en caucásicos suele oscilar entre el 10 y el 15% de la población como portadores de los alelos mutados. Desde la publicación inicial de la asociación de estos polimorfismos con mayores concentraciones plasmáticas de triglicéridos (23), han sido múltiples los estudios realizados en diferentes poblaciones en los que se han replicado las asociaciones de dichas variantes genéticas con mayores concentraciones de triglicéridos. Actualmente, no existe ninguna duda en conceder al gen APOA5 una importante contribución en el metabolismo de los triglicéridos, e incluso se ha sugerido su participación en el almacenamiento y movilización de los lípidos intracelulares al ser localizada recientemente la APOA5 en las gotas de grasa intracelular (24). Sin embargo, la participación de la APOA5 en la regulación del peso corporal y la obesidad no es bien conocido. Desde hace varios años, se han publicado decenas de estudios asociando polimorfismos en el cluster APOA1/APOC3/APOA4, junto con el que se encuentra el gen APOA5, con medidas relacionadas con la obesidad. Sin embargo, como muchos de estos polimorfismos pueden estar actuando como indicadores de la verdadera variante funcional, no se puede atribuir con certeza una mayor relevancia a alguno de los genes del cluster. Recientemente, en los participantes en el estudio Framingham (25), hemos descrito una

interacción entre el polimorfismo -1131T>C en el promotor del gen de la APOA5, y riesgo de obesidad en función de la cantidad de grasa consumida en la dieta. Esta interacción ha sido encontrada tanto en hombres como en mujeres, y afecta tanto al riesgo de obesidad como al IMC considerado de manera continua. De acuerdo con ella, las personas homocigotas para el alelo mayoritario T, incrementarían su IMC a medida que aumentaría su consumo de grasa. Sin embargo, en los portadores del alelo minoritario C (13% de la población en el estudio Framingham), un mayor consumo de grasa, no se asocia con el mismo incremento en el IMC que en los homocigotos TT. Si en lugar del IMC se considera el riesgo de obesidad o de sobrepeso, estas interacciones con el consumo de grasa han seguido manteniendo la significación estadística. Así, cuando el consumo de grasa total es alto (superior al 30% del aporte energético diario total), los portadores del alelo C poseen un menor riesgo de obesidad (OR: 0,61, 95%; IC, 0,39-0,98; $P = 0.032$) y de sobrepeso (OR: 0,63, 95%; IC, 0,41-0,96; $P = 0,031$). Estas asociaciones se mantuvieron significativas incluso tras controlar por las principales variables de confusión potencialmente implicadas. Además, cuando los distintos tipos de ácidos grasos se analizaron de manera específica, la interacción más significativa se obtuvo con los ácidos grasos monoinsaturados de la dieta. Dado que este estudio se ha realizado en población norteamericana, en la que la principal fuente de ácidos grasos monoinsaturados son las carnes, sería interesante realizar un estudio similar en población española, en la que la principal fuente de ácidos grasos monoinsaturados es el aceite de oliva.

Gen de la APOA2

El gen de la APOA2 se encuentra situado en 1q21-q23, un lugar en el que previos estudios de ligamiento han localizado una

zona relacionada con el consumo de alimentos, fundamentalmente aporte energético global y grasa total (26). La APOA2 es la segunda apoproteína mayoritaria en las lipoproteínas de alta densidad (HDL), sin embargo, su función no es bien conocida. Dado que las apolipoproteínas comparten similares estructuras genéticas, y algunas de ellas, sobre todo la APOA4 ha sido implicada en regulación de la saciedad y riesgo de obesidad en múltiples estudios (27,28), nuestro grupo hipotetizó una posible implicación de la APOA2 en la regulación de la ingesta de alimentos y riesgo de obesidad.

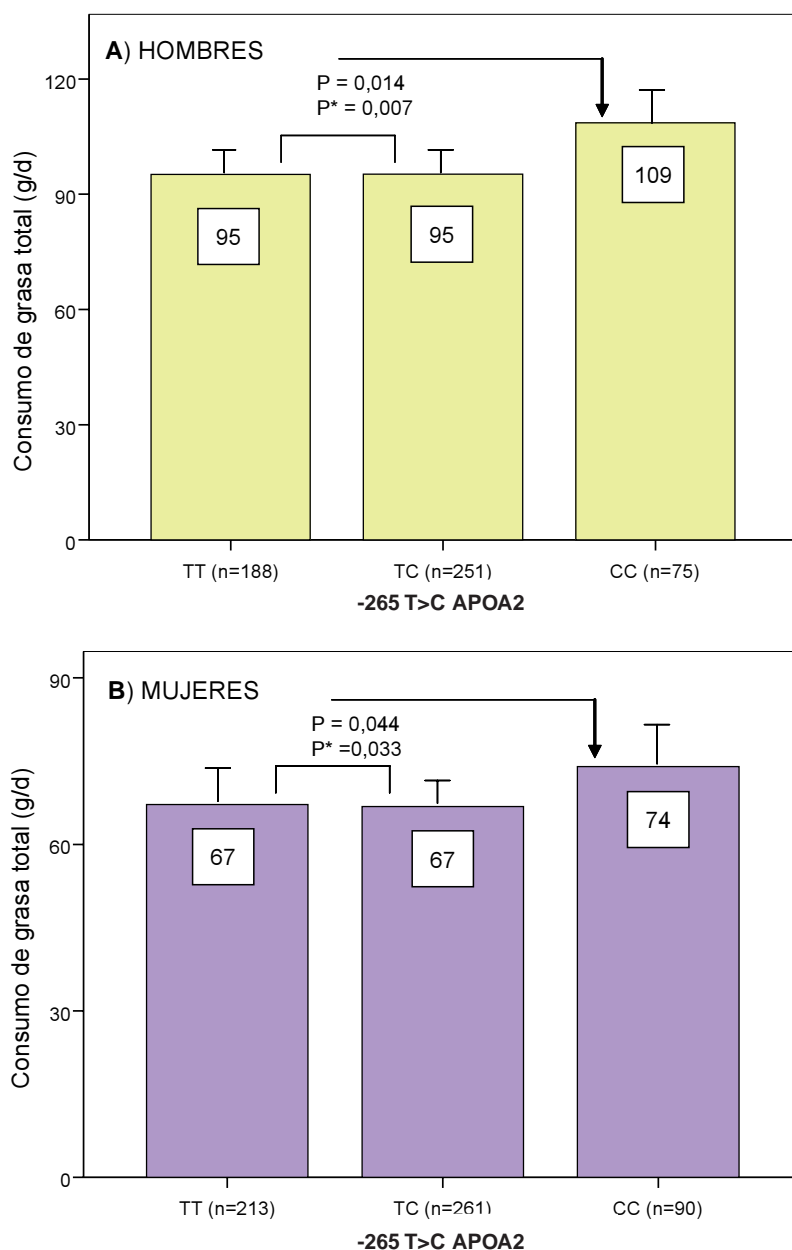
Recientemente hemos hallado que un polimorfismo (-265T>C) en el promotor del gen de la APOA2 se asocia con distinto consumo de alimentos y medidas antropométricas en los participantes en el denominado estudio GOLDN (Genetics Of Lipid lowering Drugs and diet Network study). Dicho estudio está integrado por más de 1.000 participantes de población norteamericana en el que se analiza el efecto de la dieta y del tratamiento con fibratos, así como su modulación genética sobre las variables de riesgo cardiovascular (29). Dicho polimorfismo se ha mostrado funcional en modelos de expresión, asociándose el alelo mutado a una menor expresión. En nuestro estudio, tanto en hombres como en mujeres, los homocigotos mutados CC, presentaron una mayor ingesta de energía diaria total. Este mayor aporte calórico procedía fundamentalmente de alimentos ricos en grasa y en proteínas. En la Figura 3-Página 64, se presentan los datos concretos de consumos diarios de grasa total en hombres (A) y en mujeres (B) en función de los tres genotipos de este polimorfismo. Se puede observar el carácter recesivo de la asociación genética, pues sólo los homocigotos CC difieren de los demás genotipos. También los homocigotos CC presentaron mayores medidas antropométricas y riesgo de obesidad que los portadores del alelo más frecuente T (29).

Genes INSIG2 y FTO

A diferencia de otras aproximaciones basadas en genes candidatos, estos genes se han asociado con obesidad y variables relacionadas mediante estrategias de barrido genómico. A través de los microarrays de alta densidad de genotipado se consigue genotipar en un individuo varios miles de variantes genéticas simultáneamente que cubren todos los cromosomas. Tras el análisis estadístico pertinente se consiguen encontrar asociaciones entre determinados marcadores situados dentro o alrededor de algún gen y los fenotipos de obesidad analizados, concluyendo que existe asociación entre dicho gen y obesidad. Sin embargo, estos estudios, a pesar de las correcciones que se introducen, no consiguen escapar del problema de los falsos positivos y son necesarios estudios de replicación. En el año 2006, mediante la realización de un estudio de barrido genómico, aplicando el Affymetrix GeneChip Human Mapping 100K microarrays para el genotipado de unos 100.000 SNPs (concretamente 116.204 SNPs), en 1071 participantes en el Estudio Framingham, se encontró que el polimorfismo rs7566605, localizado en el cromosoma 2q14.1, cercano al gen INSIG2, se asoció fuertemente con el riesgo de obesidad (30). En el mismo artículo se realizó el genotipado de otras poblaciones y se concluyó que los hallazgos se replicaron en cuatro cohortes, incluyendo tanto población americana, como europea y afroamericana. Los autores encontraron un efecto recesivo, de forma que el incremento de riesgo de obesidad tan sólo se presentaría en aproximadamente un 10% de la población. Sin embargo, estudios posteriores en otras cohortes muy numerosas de individuos han sido incapaces de replicar los hallazgos iniciales (31, 32).

Utilizando una aproximación similar a la empleada para el descubrimiento del gen INSIG2, recientemente se ha publicado que un polimorfismo (rs9939609) consistente en un cambio T>A, se asociaba con un mayor IMC y riesgo de obesidad de manera aditiva.

FIGURA 3 | Consumo promedio de grasa total en hombres (A) y en mujeres (B) según en polimorfismo -265T>C en el promotor del gen de la APOA2 los participantes del estudio GOLDN (Genetics of lipid lowering drugs and diet network study). Los valores de P indican si existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias que se comparan. En las comparaciones se han agrupado los portadores del alelo T y comparados con los homocigotos CC, de manera cruda (sin asterisco), o tras controlar por factores de confusión (*).



Esta asociación ha sido replicada en 13 cohortes independientes incluyendo en total 38.759 participantes (33). De acuerdo con las estimaciones de este artículo conjunto, un 16% de los adultos que son homocigotos para el alelo A, poseen como media de peso, 3 kg más que los homocigotos TT. En cuanto a la estimación del riesgo de obesidad, éste fue de 1,67 veces superior en los portadores del alelo mutado en comparación con los homocigotos normales. A diferencia del caso del gen INSG2, los resultados de las asociaciones con este gen, parecen replicarse en otras cohortes independientes, aunque con distintos rs analizados (34).

Por ello, bien sea mediante la aproximación de genes candidatos, o mediante los distintos algoritmos de identificación de nuevas variantes genéticas, lo más importante es la validez de los resultados y su reproducibilidad para poder tener utilidad clínica.

Bibliografía

1. Eckel RH, Krauss RM. (1998). American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. *Circulation* 97: 2099-100.
2. Neira M, de Onis M. (2005). Preventing obesity: a public health priority in Spain. *Lancet* 365: 1386.
3. Mutch DM, Clement K. (2006). Unraveling the genetics of human obesity. *PLoS Genet* 2: e188.
4. Barsh G, Sadag F, O'Rhailly S. (2000) Genetics of body-weight regulation. *Nature* 404: 644-651.
5. Ordovás JM, Corella D. (2004). Nutritional genomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 5: 71-118.
6. Martínez-Botas J, Anderson JB, Tessier D, Lapillonne A, Chang BH, Quast MJ, Gorenstein D, Chen KH, Chan L. (2000). Absence of perilipin results in leanness and reverses obesity in *Lepr(db/db)* mice. *Nat Genet* 26: 474-9.
7. Tansey JT, Sztalryd C, Gruia-Gray J, Roush DL, Zee JV, Gavrilova O, Reitman ML, Deng CX, Li C, Kimmel AR, Londos C. (2001). Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance to diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 6494-9.
8. Conarello SL, Jiang G, Mu J, Li Z, Woods J, Zychband E, Ronan J, Liu F, Roy RS, Zhu L, Charron MJ, Zhang BB. (2007). Glucagon receptor knockout mice are resistant to diet-induced obesity and streptozotocin-mediated beta cell loss and hyperglycaemia. *Diabetologia* 50: 142-50.
9. Newberry EP, Xie Y, Kennedy SM, Luo J, Davidson NO. (2006). Protection against Western diet-induced obesity and hepatic steatosis in liver fatty acid-binding protein knockout mice. *Hepatology* 44: 1191-205.
10. Wu JJ, Roth RJ, Anderson EJ, Hong EG, Lee MK, Choi CS, Neuffer PD, Shulman GI, Kim JK, Bennett AM. (2006). Mice lacking MAP kinase phosphatase-1 have enhanced MAP kinase activity and resistance to diet-induced obesity. *Cell Metab* 4: 61-73.
11. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, Perusse L, Bouchard C. (2006). The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)* 14:529-644.
12. Esterbauer H, Schnetitler C, Oberkofler H, Ebenbichler C, Paulweber B, Sandhofer F, Ladurner G, Hell E, Strosberg AD, Patsch JR, Krempler F, Patsch W. (2001). A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with decreased risk of obesity in middle-aged humans. *Nat Genet* 28: 178-83.
13. Yang WS, Yang YC, Chen CL, Wu IL, Lu JY, Lu FH, Tai TY, Chang CJ. (2007). Adiponectin SNP276 is associated with obesity, the metabolic syndrome, and diabetes in the elderly. *Am J Clin Nutr* 86: 509-13.
14. Qi L, Corella D, Sorli JV, Portoles O, Shen H, Coltell O, Godoy D, Greenberg AS, Ordovas JM. (2004). Genetic variation at the perilipin (PLIN) locus is associated with obesity-related phenotypes in White women. *Clin Genet* 66: 299-310.
15. Portoles O, Sorli JV, Frances F, Coltell O, Gonzalez JJ, Saiz C, Corella D. (2006). Effect of genetic variation in the leptin gene promoter and the leptin receptor gene on obesity risk in a population-based case-control study in Spain. *Eur J Epidemiol*. 21: 605-12.
16. Bell CG, Walley AJ, Froguel P (2005). The genetics of human obesity. *Nat Rev Genet* 6: 221-234.
17. Farooqi IS, O'Rahilly S (2005) Monogenic obesity in humans. *Annu Rev Med* 56: 443-458
18. Benarroch F, Hirsch HJ, Genstil L, Landau YE, Gross-Tsur V. (2007). Prader-Willi syndrome: medical prevention and behavioral challenges. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 16: 695-708.
19. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB, O'Rahilly S. (1997). Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 387: 903-8.

20. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, Hughes IA, McCamish MA, O'Rahilly S. (1999). Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med* 341: 879-84.
21. Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, Gourmelen M, Dina C, Chambaz J, Lacorte JM, Basdevant A, Bougneres P, Lebouc Y, Froguel P, Guy-Grand B. (1998). A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 392:398-401.
22. Corella D, Qi L, Sorli JV, Godoy D, Portoles O, Coltell O, Greenberg AS, Ordovas JM. (2005). Obese subjects carrying the 11482G>A polymorphism at the perlepin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 5121-6.
23. Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Cohen JC, Cox DR, Fruchart JC, Krauss RM, Rubin EM. (2001). An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science* 294: 169-73.
24. Shu X, Chan J, Ryan RO, Forte TM. (2007). Apolipoprotein A-V association with intracellular lipid droplets. *J Lipid Res* 48: 1445-50.
25. Corella D, Lai CQ, Demissie S, Cupples LA, Manning AK, Tucker KL, Ordovas JM. (2007). APOA5 gene variation modulates the effects of dietary fat intake on body mass index and obesity risk in the Framingham Heart Study. *J Mol Med* 85: 119-28.
26. Collaku A, Rankinen T, Rice T, Leon AS, Rao DC, Skinner JS. (2004). A genome-wide linkage scan for dietary energy and nutrient intakes: the Health, Risk Factors, Exercise Training, and Genetics (HERITAGE) Family Study. *Am J Clin Nutr*. 79: 881-6.
27. Tso P, Liu M, Kalogeris TJ, Thomson AB. (2001). The role of apolipoprotein A-IV in the regulation of food intake. *Annu Rev Nutr* 21: 231-54.
28. Tso P, Liu M. (2004). Apolipoprotein A-IV, food intake, and obesity. *Physiol Behav* 83: 631-43.
29. Corella D, Arnett DK, Tsai MY, Kabagambe EK, Peacock JM, Hixson JE, Straka RJ, Province M, Lai CQ, Parnell LD, Borecki I, Ordovas JM. (2007). The -256T>C polymorphism in the apolipoprotein A-II gene promoter is associated with body mass index and food intake in the genetics of lipid lowering drugs and diet network study. *Clin Chem* 53: 1144-52.
30. Herbert A, Gerry NP, McQueen MB, Heid IM, Pfeuffer A, Illig T, Wichmann HE, Meitinger T, Hunter D, Hu FB, Colditz G, Hinney A, Hebebrand J, Koberwitz K, Zhu X, Cooper R, Ardlie K, Lyon H, Hirschhorn JN, Laird NM, Lenburg ME, Lange C, Christman MF. (2006). A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity. *Science* 312: 279-83.
31. Dina C, Meyre D, Samson C, Tichet J, Marre M, Jouret B, Charles MA, Balkau B, Froguel P. (2007). Comment on "A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity". *Science* 315: 187.
32. Loos RJ, Barroso I, O'rahilly S, Wareham NJ. (2007). Comment on "A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity". *Science* 315: 187.
33. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJ, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CN, Doney AS, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy ML. (2007). A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 316: 889-94.
34. Dina C, Meyre D, Gallina S, Durand E, Korner A, Jacobson P, Carlsson LM, Kiess W, Vatin V, Lecoqeur C, Delplanque J, Vaillant E, Pattou F, Ruiz J, Weill J, Levy-Marchal C, Horber F, Potoczna N, Hercberg S, Le Stunff C, Bougneres P, Kovacs P, Marre M, Balkau B, Cauchi S, Chevre JC, Froguel P. (2007). Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat Genet* 39: 724-6.

The background features a stylized, light blue DNA double helix on the right side, spiraling upwards. To the left of the helix, there are several dark blue circles of varying sizes and thin, intersecting lines, creating a network-like or molecular structure. The overall color palette is light blue and white, with dark blue accents for the text and geometric elements.

Capítulo 3

Resistencia a la insulina:
factores desencadenantes

Capítulo 3

Resistencia a la insulina: factores desencadenantes

Reinald Pamplona, Jordi Boada, Mariona Jove, Hugo Gonzalo,
Maria Josep Bellmunt, Manuel Portero-Otín

Departamentos de Medicina Experimental y Ciencias Médicas Básicas
Universitat de Lleida-IRBLLEIDA-PCiTAL, Lleida, España

Resumen

La resistencia a insulina se asocia a defectos celulares en la acción de esta hormona y un incremento compensatorio en la secreción de la misma, situaciones que reflejan diversas variables genéticas y ambientales. La combinación de ambos factores origina cambios metabólicos y cardiovasculares asociados epidemiológica y fisiopatológicamente a dislipemia, hipertensión, obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedad coronaria. En este sentido, se ha caracterizado al adipocito como célula endocrina, con capacidad para secretar diversas citocinas, factores inflamatorios y otras moléculas señalizadoras. Esta producción de factores proaterogénicos, aportaría un nexo entre la obesidad y las complicaciones vasculares asociadas. A nivel molecular, la resistencia a insulina incluye defectos en la señalización celular, como disminución en actividades tirosina quinasa del receptor de insulina, y déficits en vías de fosforilación asociadas. La sobreproducción de radicales libres mitocondriales, facilitada por el estatus inflamatorio, modularía esas vías de fosforilación, análogamente a lo que sucede con otros receptores tirosina quinasa, contribuyendo a la resistencia insulínica.

Por último, sin embargo, factores ambientales, como los ritmos biológicos, la actividad física, la ingesta calórica y nutrientes específicos, pueden jugar un papel preventivo y terapéutico relevante.

Introducción

La resistencia a insulina y la consiguiente hiper-insulinemia contribuyen a un síndrome que típicamente incluye tolerancia anómala a la glucosa, obesidad, dislipemia, hipertensión y enfermedad coronaria. La evolución hasta el estadio final, el de diabetes mellitus tipo 2 (DM-2), es el resultado de defectos tanto en la secreción insulínica (que se localizan en la célula β pancreática) como en la propia acción de la insulina –también denominada *resistencia a la insulina*–. En ambas situaciones coexiste un componente genético reconocido, poligénico, multifactorial y no bien identificado y un componente fenotípico que integra glucotoxicidad, lipotoxicidad, función nerviosa, tejido adiposo, actividad física y edad (1).

En la historia natural de este proceso se postula que la resistencia a insulina se compensa inicialmente mediante un incremento en la secreción de insulina por parte de la célula β , con la consiguiente *hiperinsulinemia*, con el fin de mantener la homeóstasis de la glucemia.

Sin embargo, a medida que la situación de resistencia persiste y se inducen glucemias en ayunas del orden de 7,5 mM, la célula β no puede generar una mayor tasa secretoria de insulina, estableciéndose la situación de tolerancia anómala a la glucosa (IGT por “impaired glucose tolerance”). En esta fase, pese a que existe hiperinsulinemia en términos cuantitativos, la resistencia periférica a la acción de esta hormona conduce de hecho a un estado de diabetes. Si la glucemia en ayunas supera los límites de los 11 mM, a lo que contribuye de forma determinante un aumento de la producción hepática de glucosa –por la falta de inhibición de la insulina sobre gluconeogénesis y por falta de la función de almacenaje de glucógeno–, se produce una situación de respuesta insulínica a la ingesta claramente disminuida, tanto en términos cuantitativos como funcionalmente, no siendo así para los valores de insulinemia en reposo aun entonces aumentado. Esta situación se asocia a la pérdida de función de la célula β , sin un aumento de la resistencia periférica a la insulina. Pese a que se han buscado defectos genéticos en la célula β (que se superpondrían al defecto genético que causaría insulino-resistencia), no se han evidenciado mutaciones en varios genes de los islotes pancreáticos. Por otro lado, cabe sumar los efectos de la glicotoxicidad (efectos de la hiperglucemia crónica sobre el páncreas) y los de los ácidos grasos libres (lipotoxicidad) y las grasas dietarias, que empeorarían la función pancreática (2).

En consecuencia, la hiperinsulinemia, como respuesta compensatoria a la resistencia insulínica, precede el desarrollo de la hiperglucemia. Las evidencias obtenidas mediante técnicas como la de supresión de insulina y las de clamp euglicémico hiperinsulinémico han permitido cuantificar este fenómeno, estableciéndose que la progresión a IGT, caracterizada por valores elevados de insulinemia tanto en la fase postabsortiva como en la fase de digestión, es posterior a la resistencia a insulina, apoyando el uso de la concentración

de insulina como parámetro indicativo de la posible resistencia a la insulina, que no sería descartable por un test de tolerancia a la glucosa normal. De hecho, un porcentaje de individuos con tolerancia a la glucosa normal (en algunas series del 25%), podrían presentar valores de insulinemia alterados, con un riesgo potencial de deterioro de la célula β (3).

Mecanismos moleculares del síndrome de resistencia a la insulina

Tras la unión de insulina a su receptor de membrana, se produce la generación de segundos mensajeros que inducen una serie de fosforilaciones o defosforilaciones que resultan finalmente en la estimulación del metabolismo, particularmente el glicídico. El primer paso, la fosforilación de la subunidad β del receptor a insulina, conlleva el inicio de la actividad tirosina quinasa del propio receptor, que inicia la fosforilación de diversas proteínas intracelulares como IRS-1, clave para la síntesis de glucógeno en músculo, o IRS-2, que media los efectos insulínicos en la producción hepática de glucosa por el hígado. Entre las proteínas implicadas en la vía también se encuentra la fosfatidil-inositol-3-quinasa (PI-3K), implicada en el transporte de glucosa, a través de transportadores GLUT-4 en tejido muscular y en la activación de la glucógeno sintasa (4). Una vez en el citosol, la glucosa se metaboliza por una serie de enzimas también bajo el control de la insulina, como la hexoquinasa (que fosforila la glucosa), la glucógeno sintasa, la fosfofructoquinasa (regulando glicolisis) y la piruvato deshidrogenasa (que regula la oxidación de glucosa).

Uno de los déficit a nivel de receptor en la insulino-resistencia es la disminución en la actividad tirosina quinasa inducida por la insulina, aunque también se ha propuesto que dichas alteraciones se darían como compensación a la hiperinsulinemia y no serían causa de la resistencia a insulina.

Diversos polimorfismos de IRS-1 se asocian a la resistencia a insulina, y varios polimorfismos combinados en efectores post-receptor de la vía podrían contribuir a la resistencia insulínica. Otro de los déficit se han situado en la capacidad de fosforilación de IRS-1 y de su asociación con PI-3-K, que reduciría la translocación de GLUT4 a la membrana, disminuida en casos de obesidad (sin diabetes) y en individuos diabéticos. Asimismo, la activación de AKT y la de factores transcripcionales como FOXO1 también se han implicado en la pérdida de capacidad de generación de óxido nítrico (NO) endotelial y en los efectos sobre el metabolismo lipídico y glicídico (5, 6).

En contraposición con estos efectos metabólicos, las propiedades funcionales de insulina como factor de crecimiento, a través de la activación de la vía MAP-quinasa, se mantienen intactas en individuos con obesidad y en pacientes con insulinoresistencia y DM-2. Así, la hiperinsulinemia conduce a activación de la vía de señalización MEK1-ERK1/2 tanto en individuos sanos como en insulinoresistentes y en pacientes diabéticos. Dado que las ERK pueden fosforilar determinados residuos de serina en IRS-1 (que inactiva parcialmente su actividad), este paso podría conducir a la pérdida de sensibilidad a la insulina. Asimismo, la estimulación de la vía MAP-quinasa conduce a la mayor proliferación de las células musculares lisas, a la producción de endotelina-1, a una mayor formación de colágeno y a una mayor secreción de factores de crecimiento y citocinas proinflamatorias, justificando parcialmente la aceleración de la aterosclerosis en pacientes con DM-2.

En conclusión, la insulinoresistencia, que es un mecanismo fisiológico en determinadas situaciones, si se da de forma crónica es determinante en el desarrollo de DM-2 y otras patologías de alta prevalencia. Este fenómeno se desencadenaría por alteraciones en el tejido adiposo, por diversos fenómenos metabólicos y por cambios en respuestas relacionadas con la homeostasis energética en el sistema nervioso central.

Tejido adiposo: ¿Cuánto, cómo y dónde?

Adipocito: papel en señalización intercelular

Los estudios de base epidemiológica demuestran una relación robusta entre obesidad y resistencia a la insulina (7). Tanto en estado de ayunas como después de un estímulo hiperglicémico, la obesidad se caracteriza por un estado de hiperinsulinemia. El aumento de la concentración de ácidos grasos libres, la disminución de la concentración de adiponectina –hormona de sensibilización insulínica– y el aumento de los niveles de adipocitoquinas como leptina, o resistina, entre otras, contribuyen a este estado de resistencia insulínica. Recientemente se ha sumado a éstas el inhibidor del activador del plasminógeno, la IL-6, y la proteína de unión a retinol 4 (RBP4), elevada en algunas series de casos de resistencia a la insulina en humanos (8).

Como ya se ha indicado, el mantenimiento de la euglicemia en el contexto de la historia natural de la DM-2 es pasajero, atribuyéndose a los adipocitos que se llegue a una situación en que la hiperinsulinemia no es suficiente para compensar la resistencia insulínica, generándose el estado hiperglicémico. En este sentido, recientemente se ha establecido el papel de mecanismos inflamatorios como nuevo factor que contribuye a la insulinoresistencia en la obesidad, en el sentido en que existe una asociación entre resistencia a insulina, grasa perivisceral y nivel circulatorio de mediadores inflamatorios como citocinas proinflamatorias, proteínas de fase aguda y moléculas de adhesión celular en forma soluble. Así, en modelos de roedores sometidos a dieta grasa, la hiperinsulinemia correlaciona con el grado de infiltración de macrófagos activados en tejido adiposo, que serían la fuente de estos factores inflamatorios.

Ello concuerda con que en individuos obesos, los monocitos circulantes (precursores de los macrófagos) muestran un estado proinflamatorio, y con que la pérdida de peso se da una disminución del factor proinflamatorio MCP1. Este estatus inflamatorio, calificado de baja intensidad, a través de mediadores solubles como TNF, IL-6 u otros, contribuiría a alteraciones endoteliales asociadas a la ateromatosis, y podría constituir, mediante el uso de antiinflamatorios, un punto de intervención en el abordaje terapéutico de la resistencia a la insulina (7).

Importancia de la localización: ¿visceral o subcutánea?

Independientemente de estos fenómenos, también existe abundante bibliografía sobre la importancia relativa de la localización anatómica (o intracelular) de los depósitos lipídicos, confrontando la distribución perivisceral frente a la subcutánea.

Así, el estudio IRAS, realizado con 1.500 individuos no diabéticos, reveló la importante asociación de ambos tipos de tejido adiposo (de forma independiente) con la resistencia a insulina, aunque el poder predictivo de la acumulación de grasa visceral fue superior a la de la subcutánea (9). Otros estudios, sin embargo, refuerzan la importancia del tejido adiposo subcutáneo (y en particular de la capa más profunda de dicho tejido) con la resistencia a la insulina. Asimismo, cabe considerar el papel de los adipocitos intratisulares: la acumulación de tejido adiposo o incluso triacilglicéridos en hígado y músculo esquelético (inter e intramiocelular) está relacionada de forma cuantitativa con resistencia insulínica en los mismos tejidos, contribuyendo a hiper-glucemia *en ayunas* por aumento de la producción hepática de glucosa e hiper-glicemia *postprandial* por disminución del consumo muscular de glucosa inducido por insulina. Asimismo, es interesante mencionar la reversión de la resistencia a insulina en casos de privación dietaria de lípidos,

sin alteración de la adiposidad perivisceral ni de la subcutánea, hecho compatible con la influencia negativa de los metabolitos derivados de ácidos grasos sobre la vía de transducción de señales de insulina en hígado y músculo esquelético.

En otra línea de trabajo, diversos hallazgos demuestran la importancia del metabolismo intracelular del cortisol en tejidos diana, y en particular del tejido adiposo, como mecanismo de modulación de la señalización insulínica, dado que el cortisol se encuentra entre las hormonas de contrarregulación insulínica.

Cabe recordar que la 11 β -hidroxi-esteroide dehidrogenasa (11 β HSD), encargada de degradar el cortisol a cortisona, presenta dos isoformas. La isoforma 2 actúa en placenta, colon y riñón, impidiendo que la cortisona active el receptor a corticoides con efectos mineralocorticoideos (y por tanto evitando la depleción de sodio), mientras que la isoforma 1 convierte cortisona en cortisol, generando éste los efectos metabólicos subsiguientes. Dado que la isoforma 1 se expresa en tejido adiposo, particularmente en grasa visceral, la activación de la 11 β HSD tipo 1 en adipocitos viscerales lleva a la resistencia a insulina. Así, la insulinoresistencia se debería en parte, a un exceso de actuación de hormona glucocorticoidea en tejido adiposo visceral (calificada de “enfermedad de Cushing del omento”). Por tanto, los animales de experimentación con sobreexpresión específica de 11 β HSD1 en adipocitos, presentan hipertensión, incremento de adiposidad (sobre todo visceral) y resistencia a insulina, observándose efectos contrarios en animales sobreexpresores de 11 β HSD2 (10). Asimismo, los agentes que reducen específicamente la actividad de la 11 β HSD1 conducen a un aumento de la sensibilidad a insulina y a una reducción de la dislipemia. En esta línea, en humanos con obesidad se observa una pérdida de 11 β HSD1 en hígado lo que potenciaría una mayor producción de cortisol por regulación

del eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal y dotaría de más cortisol a los adipocitos, contribuyendo a la resistencia insulínica.

El tejido adiposo como diana de insulinoresistencia

El tejido adiposo es, al margen de su papel como contribuidor a la resistencia insulínica, diana de la misma, caracterizándose su falta de sensibilidad a insulina por incrementos de los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres. Cabe recordar aquí el importante papel de la insulina como inhibidor de la lipólisis a través de la inhibición de la lipasa hormona-sensible adipocítica. Por ello, en situaciones de resistencia a la insulina no sólo se da hiperglucemia, sino también hiperlipemia atribuida a incremento de ácidos grasos libres en plasma. Esta elevación crónica de los niveles de ácidos grasos libres se considera, en el contexto de la hipótesis del “desbordado” (*overflow*), como un componente clave de la resistencia insulínica (11). Dicha hipótesis postula que cuando la capacidad de almacenado lipídico del adipocito se ve superada, se produce un exceso de moléculas derivadas de los ácidos grasos como ceramidas, esfingolípidos y derivados de coenzima A en músculo, hígado, páncreas y arterias, que reproducen fenómenos de resistencia a insulina. Estos mediadores lipídicos activarían vías dependientes de protein quinasa C, Jun quinasa (JNK) y el inhibidor de la quinasa β del NF- κ B (IKK β), que pueden aumentar la fosforilación de serinas en los sustratos del receptor de insulina (IRS1 y 2), con efectos inhibitorios en su actividad. Asimismo, los ácidos grasos libres contribuirían a la activación de varias vías inflamatorias, que pueden entorpecer la señalización insulínica en músculo esquelético.

Mediadores metabólicos: ¿Relación con el envejecimiento?

Diversos hechos recientes evidencian el papel de mediadores metabólicos en el desarrollo de la resistencia a la insulina.

Entre ellos, destacan el papel de la quinasa activada por AMP (AMPK), el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial. Cabe indicar que estos dos últimos son mediadores de otro proceso fisiológico: el envejecimiento. Cabe recordar que la edad puede ser un factor relevante (de menor importancia que la obesidad) para el desarrollo de la insulinoresistencia, y que ésta condiciona características compatibles con un aumento de la tasa de envejecimiento de determinados órganos diana (como el sistema cardiovascular). Mención aparte merece el hecho de que aquellas manipulaciones experimentales que pueden modular el envejecimiento, como son la restricción calórica y la ingesta de nutrientes específicos, también conducen a mejoras o atenuaciones de la insulinoresistencia (12).

AMPKA

La AMPK es un enzima de estrés activado en estados celulares de alto consumo energético (como en la actividad física), o de baja producción energética, que da como resultado una mayor producción de ATP y un menor consumo del mismo. Este sistema está ampliamente expresado en una amplia variedad de tipos celulares como los hepatocitos, los miocitos, las células β , los adipocitos, las neuronas sensibles a la glucemia y en algunas células endoteliales. Su regulación se da, entre otros, por fosforilación mediada por quinasas como LKB1 u otras quinasas dependientes de calmodulina. Uno de sus efectos es la activación de la descarboxilasa de malonil-CoA y la inhibición de acetil-CoA carboxilasa (ACC), lo que conduce a una mayor producción de ATP dado que el malonil-CoA se utiliza como intermediario en la síntesis de ácidos grasos y como inhibidor alostérico de la carnitina palmitoil-transferasa 1 α , responsable a su vez de la entrada de ácidos grasos en mitocondria para su oxidación, una de las fuentes más abundantes de energía celular.

Entre otros efectos, la AMPK inhibe la síntesis de triacilglicéridos y de ceramida, al margen de reducir el estrés oxidativo y la activación de NF- κ B, por mecanismos menos claros (13).

En este contexto es interesante destacar que, en modelos experimentales de resistencia insulínica (como en la rata *falfa*, en la ZDF o en modelos inducidos por dieta), así como tras la infusión de resistina, una adipocitoquina, se hallan niveles disminuidos de AMPK y su actividad, así como el efecto resultante (incremento de malonil-CoA). A ello cabe recordar que los inhibidores de AMPK pueden potenciar los procesos proaterogénicos. Entre las maniobras que conducen a una mayor activación de AMPK destacan la restricción calórica, el ejercicio (particularmente en músculo, hígado y en tejido adiposo, a través de un incremento de cateolaminas e IL-6 circulante), la metformina, tiazolidinas, la adiponectina, el análogo de adenosina 5-aminoimidazol-4-carboxamida-1-ribofuranosido (AICAR), el ácido lipoico, los estrógenos y los polifenoles, como los de origen vegetal. Curiosamente, todas estos agentes disminuyen la resistencia insulínica, mejoran el control glicémico y la disfunción endotelial. Por otro lado la inhibición de ACC –y la subsiguiente menor producción de malonil-CoA– mejora la sensibilidad insulínica, así como la acumulación intrahepática o intramuscular de lípidos. En la ausencia de glucosa, la activación de AMPK y la oxidación de ácidos grasos se incrementan al triple, mientras que la hiperglucemia causa resistencia insulínica, apoptosis y disfunción mitocondrial, todas ellas prevenibles por AMPK.

Estrés oxidativo y función mitocondrial

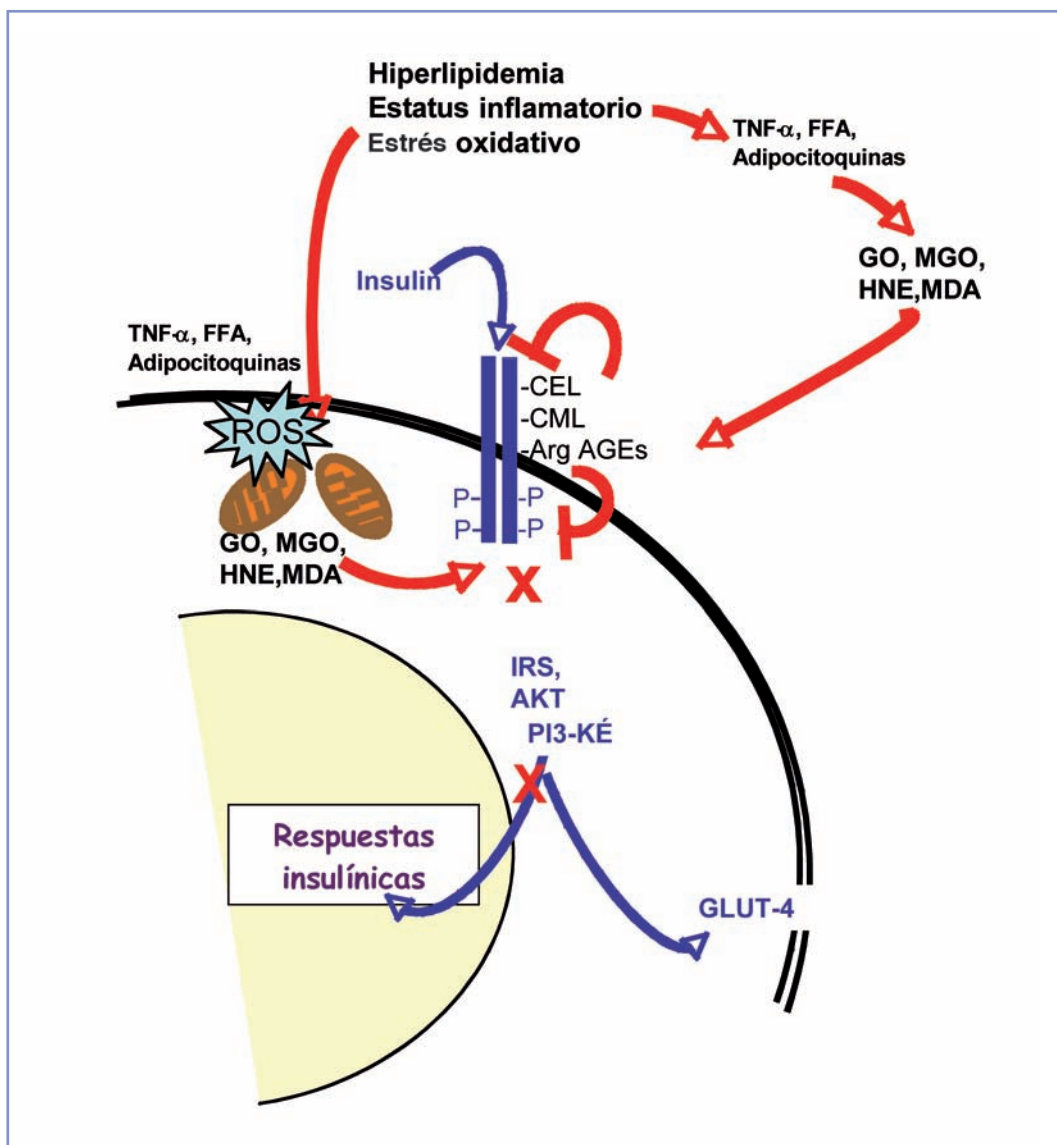
El estrés oxidativo, o desequilibrio entre formación de radicales libres derivados del oxígeno o del nitrógeno y su degradación, juega un papel relevante en el desarrollo de la insulinoresistencia. Cabe indicar que la producción de los radicales libres no es secundaria a hiperglucemia (en un primer momento),

dado que este fenómeno es posterior a la resistencia de insulina. El incremento en radicales libres en el estado prediabético podría deberse a una mayor abundancia de ácidos grasos que causan alteraciones mitocondriales a través de una mayor β -oxidación. En individuos sanos, la infusión de ácidos grasos causa estrés oxidativo y cierto grado de insulinoresistencia que se revierte por la administración de glutatión. En cualquier caso, el estrés oxidativo puede causar (en modelos animales y en humanos) situaciones de resistencia a la insulina a través de diversos mecanismos, como la activación de diversas quinasas de serina y treonina (JNK, p38MAPK, IKK β), que fosforilarían al receptor de insulina y a los IRS, impidiendo su activación (14). Asimismo, trabajos de nuestro grupo han demostrado la inactivación de receptores tirosina quinasa (de la familia funcional del receptor de insulina) como el EGFR o el PDGFR por la presencia de aldehídos derivados de reacciones de peroxidación lipídica y glicoxidación (15) (Figura 1).

Entre los mediadores mitocondriales de resistencia a insulina cabe indicar que se han objetivado pérdidas en producción de ATP muscular en pacientes no diabéticos con resistencia a la insulina.

Dado que la síntesis de ATP requiere de una función mitocondrial adecuada, se ha hipotetizado la existencia de pérdidas de la actividad de los factores respiratorios mitocondriales (factores de transcripción que promueven la síntesis de proteínas mitocondriales codificadas en el núcleo), con pérdidas en la capacidad oxidativa mitocondrial que condicionarían la acumulación intramuscular de lípidos, incluso en fases muy iniciales del síndrome de resistencia insulínica. En este punto, se ha descrito una pérdida en los niveles de PGC-1, uno de los factores más importantes en este sentido, en pacientes con DM-2 y en insulinoresistentes (16).

FIGURA 1 | Mecanismos potenciales de modificación de la señalización insulínica mediados por estrés oxidativo y carbonílico. El incremento de estrés oxidativo y carbonílico causados a nivel extracelular y a nivel celular por el estatus proinflamatorio y el aumento de ácidos grasos circulantes contribuiría al aumento de concentración de aldehídos derivados de peroxidación lipídica y glicoxidación –glioxal (GO), metilglioxal (MGO), 4-hidroxinonenal (HNE) y malondialdehído (MDA)–. Dichos aldehídos modificarían residuos susceptibles del receptor de insulina u otros mediadores de señalización insulínica (IRS, AKT), generando productos estables de modificación como carboximetilisina (CML), carboxietilisina (CEL) y otros, conduciendo a cambios en su función que contribuirían a la propagación de la resistencia insulínica.



La baja actividad física se asocia a pérdidas en la expresión de PGC-1, así como los altos índices de masa corporal o dietas ricas en grasas, al margen de las evidencias obtenidas en modelos experimentales. Sin embargo, el efecto de la dieta puede ser dependiente del tipo de lípido, con el palmitato induciendo reducción en los niveles de PGC-1, pero no con oleato. Algunos antidiabéticos, como la rosiglitazona, la metformina o el AICAR también causan incrementos en la expresión de PGC-1. Cabe indicar que no existen, como en los otros mecanismos expuestos, conocimientos suficientes para indicar si la pérdida de PGC-1 es causa o consecuencia de la insulinoresistencia, pese a que en situaciones como en la sobrealimentación crónica o dietas con alto grado de saturación, o en inactividad física, se produce una pérdida de este factor, contribuyendo potencialmente al desarrollo de la resistencia.

Influencia del sistema nervioso central: ¿Está todo en la cabeza?

Ritmos biológicos

En diversos animales hibernantes se producen fenómenos análogos a la resistencia insulínica en humanos: durante la fase de acumulación de energía anterior a la hibernación, existe hipertrofia adipocítica, hiperfagia, hiper-insulinemia y gasto energético reducido, llegando a doblar la masa corporal, acompañado de resistencia a insulina de forma fisiológica, controlado todo ello por cambios en la duración de la exposición lumínica. En este sentido, los ritmos circadianos humanos que afectan numerosas variables fisiológicas - ritmo cardiaco, presión arterial, ciclo vigilia-sueño, metabolismo de sales biliares, síntesis de colesterol, temperatura, activación del intestino y riñón, y sistemas endocrinos- regulados a su vez por actividad física, comportamiento de ingesta y luz, pueden afectar a la sensibilidad insulínica.

Así, se acepta que los aumentos de incidencia de resistencia a la insulina observados en trabajadores de turno cambiante, en *jet-lag*, o en síndromes de sobreingesta nocturna, se pueden atribuir parcialmente a la influencia de los ritmos circadianos sobre el metabolismo. Asimismo, las pérdidas en duración y calidad del sueño se relacionan con la obesidad, reduciendo la tolerancia a la glucosa, los niveles de TSH y leptina e incrementando la actividad del sistema simpático, la concentración nocturna de cortisol, la concentración de *ghrelin*, el índice de masa corporal e incluso los niveles de algunas interleucinas, potenciando un estado proinflamatorio. En este sentido, reforzando el nexo entre sueño-vigilia y homeóstasis insulínica, cabe recordar que el déficit de *Clock* (uno de los genes que regulan en positivo el ritmo circadiano) (18) en ratones, conlleva obesidad y síndrome metabólico, así como que el déficit de *Rev-erba* (un regulador de la adipogénesis relacionado con ritmos circadianos) provoca hipertriacilgliceridemia, disminución de la entrada de glucosa inducida por insulina en adipocitos e IGT, sin obesidad. Asimismo, puede hipotetizarse que las funciones endocrinas del adipocito (seleccionadas evolutivamente), podrían contribuir a la regulación del peso así como a las respuestas a la actividad diaria y anual. Así, el almacenaje de grasa hacia el final del verano prepararía al organismo a una pérdida de disponibilidad calórica en otoño e invierno, influyendo asimismo en la regulación en núcleos supraquiasmáticos del ritmo circadiano, que adapta al organismo a los cambios en el ambiente, asegurando una función y comportamiento adecuados a la hora del día (19). La pérdida de estas señales conlleva en ratones un aumento del peso, incremento de la glucemia, triacilglicéridos, colesterol y leptina, mientras que en humanos, a tenor de estudios epidemiológicos, contribuiría a obesidad abdominal, hipertriacilgliceridemia y a HDL disminuido, amén de alteraciones en la tolerancia a la glucosa

y a pérdidas en la actividad del receptor de insulina, contribuyendo a la incidencia aumentada de enfermedad cardiovascular y DM-2.

Regulación de la ingesta

Se acepta que la leptina y la insulina son dos de las señales más importantes que informan al cerebro sobre los niveles de adiposidad contribuyendo a la homeóstasis energética i.e. equilibrio entre ingreso y gasto energéticos (20). El bloqueo de las vías insulínicas o de leptina neuronales llevan a un incremento de la ingesta, con ganancia de peso. La leptina y la insulina actúan inhibiendo la vía neuronal orexigénica NPY/AgRP y estimulan la vía anorexigénica POMC, con intervención de péptidos intestinales, como ghrelina, que estimula la vía NPY y la proteína YY que inhibe dicha vía. Asimismo, la leptina actúa en el núcleo arcuado aumentando la sensibilidad encefálica a señales de saciedad como la distensión gástrica, y disminuyendo las señales de recompensa asociadas a la ingesta. Por otro lado, la insulina, que cruza la barrera hemato-encefálica mediante un proceso de transcitosis mediada por receptor saturable, actuando vía AKT, conlleva efectos mitogénicos y antiapoptóticos a nivel cerebral, protegiendo frente al estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial en neuronas y glia. Diversas zonas relacionadas con el aprendizaje, memoria y cognición como el córtex o el hipocampo, muestran un alto grado de interacción con insulina, actuando de forma rápida. Por el contrario, si los niveles aumentan de forma crónica (como en el caso de hiperinsulinemia compensatoria), se llega a una situación de alta secreción de citoquinas, F2-isoprostanos y otros indicadores del estatus inflamatorio cerebral, como por ejemplo la secreción de β amiloide, implicando a la insulina (o a sus efectos cerebrales) en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer.

Dado que se producen déficit del receptor a la insulina en otros órganos, como la propia célula β , durante la insulinoresistencia,

se ha propuesto que la pérdida de señalización en la regulación de la ingesta sería un mecanismo de perpetuación de este desequilibrio metabólico. Así, la delección neuronal de IRS-2 se asocia a obesidad, hallazgo compatible con la disminución de los efectos anorexígenos de la insulina intraventricular tras infusión intracerebral de un inhibidor de PI3K, o con la pérdida de PI3K en ratas con dieta inductora de obesidad (21).

Por otro lado, también existen efectos periféricos de la resistencia cerebral a insulina, dado que la infusión de insulina, ácidos grasos libres, glucosa o aminoácidos en el núcleo arcuado incrementa la sensibilidad insulínica a nivel hepático, conduciendo a una menor producción de glucosa. Así, se podría proponer que la acción disminuida de insulina, leptina u otros sobre el cerebro conduciría a incrementos de la ingesta, empeorando la resistencia a la insulina.

Conclusiones

La resistencia a insulina se asocia a defectos de señalización celular desencadenados por factores oxidativos, inflamatorios y bioenergéticos, entre otros, que se ven modulados por factores ambientales como la actividad física y los hábitos nutricionales. Sin embargo se desconoce si la respuesta individual a determinados nutrientes, a evaluar mediante aproximaciones de nutrigenómica y metabolómica, pueden modular, como es de esperar, el desarrollo de dicha resistencia insulínica, conocimiento que permitiría la individualización racional de las recomendaciones nutricionales.

Bibliografía

1. Powers AC (2005) Diabetes mellitus. Pathogenesis en Harrison's Internal Medicine, 16ª Edición, Editores McGraw-Hill, USA.
2. Bergman RN, Ader M.(2000) Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Trends Endocrinol Metab.* 11: 351-356.

3. Diamond MP, Thornton K, Connolly-Diamond M, Sherwin RS, DeFronzo RA. (1995) Reciprocal variations in insulin-stimulated glucose uptake and pancreatic insulin secretion in women with normal glucose tolerance. *J Soc Gynecol Invest* 2: 708-715.
4. Shepherd PR, Withers DJ, Siddle K (1998). Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signaling. *Biochem J*. 333: 471-490.
5. Accili D, Arden KC. (2004). FoxOs at the crossroads of metabolism, differentiation and transformation. *Cell* 117: 421-426.
6. Lou Z, Fujio Y, Walsh K (2000). Acute modulation of endothelial Akt/PKB activity alters nitric oxide-dependent vasomotor activity in vivo. *J Clin Invest* 106: 493-499.
7. Qatanani M, Lazar MA (2007). Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes Dev* 21: 1443-1455.
8. Wolf G. (2007) Serum retinol-binding protein: a link between obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes. *Nutr Rev* May; 65: 251-256.
9. Henkin L, Bergman RN, Bowden DW, Ellsworth DL, Haffner SM, Langefeld CD, Mitchell BD, Norris JM, Rewers M, Saad MF, Stamm E, Wagenknecht LE, Rich SS. Genetic epidemiology of insulin resistance and visceral adiposity (2003). The IRAS Family Study design and methods. *Ann Epidemiol*. 13: 211-217.
10. Walker BR. (2004) Is "Cushing's disease of the omentum" an affliction of mouse and men? *Diabetologia*. 47: 767-769.
11. Unger RH. (2003) Lipid overload and overflow: metabolic trauma and the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab*. 14: 398-403.
12. Manco M, Mingrone G. (2005) Effects of weight loss and calorie restriction on carbohydrate metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 8: 431-439.
13. Steinberg GR, Michell BJ, van Denderen BJ, Watt MJ, Carey AL, Fam BC, Andrikopoulos S, Proietto J, Gorgun CZ, Carling D, Hotamisligil GS, Febbraio MA, Kay TW, Kemp BE (2006). Tumor necrosis factor alpha-induced skeletal muscle insulin resistance involves suppression of AMP-kinase signaling. *Cell Metab* 4: 465-474.
14. Kaneto H, Nakatani Y, Kawamori D, Miyatsuka T, Matsuoka TA, Matsuhisa M, Yamasaki Y (2006). Role of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and c-Jun N-terminal kinase in pancreatic beta-cell dysfunction and insulin resistance. *Int J Biochem Cell Biol*. 38: 782-793.
15. Cantero AV, Portero-Otin M, Ayala V, Auge N, Sanson M, Elbaz M, Thiers JC, Pamplona R, Salvayre R, Negre-Salvayre A (2007). Methylglyoxal induces advanced glycation end product (AGEs) formation and dysfunction of PDGF receptor-beta: implications for diabetic atherosclerosis. *FASEB J*. 21: 3096-3106.
16. Vianna CR, Huntgeburth M, Coppari R, Choi CS, Lin J, Krauss S, Barbatelli G, Tzameli I, Kim YB, Cinti S, Shulman GI, Spiegelman BM, Lowell BB (2006). Hypomorphic mutation of PGC-1beta causes mitochondrial dysfunction and liver insulin resistance. *Cell Metab*. 4: 453-464.
17. Di Lorenzo L, De Pergola G, Zocchetti C, L'Abbate N, Basso A, Pannacchiulli N, Cignarelli M, Giorgino R, Soleo L (2003). Effect of shift work on body mass index: results of a study performed in 319 glucose-tolerant men working in a Southern Italian industry. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 27: 1353-1358.
18. Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, Laposky A, Losee-Olson S, Easton A, Jensen DR, Eckel RH, Takahashi JS, Bass J (2005). Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science* 308: 1043-1045.
19. Grant PJ (2005). Obesity, adipocytes and squirrels. *Diab Vasc Dis Res*. 1: 67.
20. Schwartz MW, Porte D Jr. (2005) Diabetes, obesity, and the brain. *Science*. 307:375-379
21. Taguchi A, Wartschow LM, White MF. (2007) Brain IRS2 signaling coordinates life span and nutrient homeostasis. *Science*. 317: 369-372.



Capítulo 4

Avances en la prevención de
enfermedades cardiovasculares.
Nuevos marcadores bioquímicos

Capítulo 4

Avances en la prevención de enfermedades cardiovasculares. Nuevos marcadores bioquímicos

Juan Antonio Gómez Gerique

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Resumen

La enfermedad cardiovascular (ECV) es actualmente una de las principales causas de muerte y de consumo de recursos sanitarios en la mayoría de las sociedades occidentales. Como consecuencia de la investigación desarrollada para su prevención, se han definido una serie de “factores de riesgo mayores” (FR), algunos de los cuales (como sexo, edad o antecedentes familiares o personales de enfermedad cardiovascular prematura) no son modificables, pero otros (como consumo de tabaco, HTA, descenso del colesterol de HDL, elevación de colesterol de LDL) permiten la instauración de medidas de intervención para su control.

No obstante, los FR conocidos no explican completamente el riesgo total de ECV y han empezado a surgir nuevos factores de riesgo, conocidos como “emergentes”, que pueden permitir mejorar nuestra estimación del riesgo cardiovascular global y al mismo tiempo ofrecen nuevas dianas terapéuticas.

Entre estos factores de riesgo emergentes se encuentran las elevaciones plasmáticas de proteína C Reactiva, lipoproteína (a) o de homocisteína y la presencia de determinadas modificaciones genéticas.

La coexistencia de dos o más de estos factores de riesgo emergentes eleva en un peldaño (p.ej de riesgo intermedio a alto riesgo) la estimación del riesgo cardiovascular, y en consecuencia la diana del tratamiento hipolipemiente, disminuyendo la concentración de cLDL que es deseable obtener con la intervención; todo esto independientemente de la posible intervención directa sobre los mismos, que en ocasiones es posible (PCR, homocisteína) y en otras precisa de una mayor investigación para poder disponer de los fármacos adecuados.

Introducción

La arteriosclerosis, proceso básico que se identifica como el sustrato directamente relacionado con el desarrollo de los accidentes cardiovasculares, es un proceso multifactorial del que se conocen muchos de sus principales factores de riesgo (factores cuya presencia favorece el aceleramiento del proceso). No obstante, estos factores de riesgo “clásicos” (FR) o mayores (Figura 1, página 82), que han sido utilizados para las principales recomendaciones de prevención cardiovascular (Figura 2, página 82) no han sido capaces de explicar completamente por sí mismos la razón de la evolución de la enfermedad cardiovascular.

FIGURA 1 | Factores de riesgo tradicionales.

- Historia Familiar
 - Edad
 - Sexo Masculino
- Tabaco
 - Inactividad Física
 - Sobrepeso / Obesidad
- CoIT / cLDL/ cHDL/ TG
 - TA
 - Glucosa

FIGURA 2 | Objetivos para cLDL y puntos de corte para cambios en estilos de vida e inicio del tratamiento con fármacos en diferentes categorías de riesgo.

Categoría de Riesgo	LDL Objetivo (mg/dL)	Nivel de LDL para el inicio de cambios en estilos de vida (mg/dL)	Nivel de LDL para Considerar el Tto con Fármacos (mg/dL)
EIC o Riesgo Equivalente (riesgo a 10 años >20%)	<100	≥100	≥130 (100–129: fármacos fármacos opcionales)
2+ Factores de Riesgo Riesgo (riesgo a 10 años ≤20%)	<130	≥130	riesgo a 10 años 10–10–20%: ≥130 riesgo a 10 años <10%: ≥160
0–1 Factor de Riesgo Riesgo	<160	≥160	≥190 (160–189: fármacos fármacos opcionales)

JAMA, May 16, 2001, 19:2486-5497

Por este motivo, en los últimos años se están realizando importantes esfuerzos para identificar nuevos factores o marcadores de riesgo que puedan ayudarnos a identificar, incluso desde el punto de vista individual, a aquellas personas que requieren una especial atención con el fin de evitar o minimizar futuros accidentes cardiovasculares (Figura 3).

Gracias a estos esfuerzos, han aparecido múltiples “nuevos” marcadores candidatos de enfermedad cardiovascular que deben ser evaluados en el contexto clínico para identificar si el conocimiento de los mismos

aporta algún valor añadido a la capacidad predictiva de los FR clásicos ampliamente utilizados (1).

No obstante, antes de aceptarlo para su uso clínico, existen algunas preguntas que tendremos que hacernos frente a cualquier candidato a marcador de riesgo (Figura 4):

- ¿Podemos medirlo adecuadamente en el contexto clínico?, es decir, ¿existen métodos practicables y al alcance de los laboratorios clínicos, con la suficiente fiabilidad para que los resultados obtenidos sean manejables?

FIGURA 3 | Factores de riesgo emergentes.

Limitaciones de las estimaciones actuales del riesgo de enfermedad coronaria.

- **Identificación de pacientes de Riesgo**
 - Es necesario disponer de mejores alternativas para identificar a pacientes de riesgo
 - Es necesario disponer de mejores marcadores de enfermedad coronaria.
- **Tratamiento farmacológico** – a pesar del tratamiento adecuado, algunos pacientes siguen mostrando un alto riesgo cardiovascular.
 - Es preciso disponer de nuevos tratamientos dirigidos a objetivos distintos del cLDL.
 - Los nuevos tratamientos deben estar dirigidos a objetivos que se relacionen directamente con los mecanismos de la enfermedad.

FIGURA 4 | Factores de riesgo emergentes.

Preguntas que tendremos que hacernos frente a cualquier candidato a marcador de riesgo:

¿Podemos medirlo adecuadamente en el contexto clínico?, es decir, ¿existen métodos practicables y al alcance de los laboratorios clínicos, con la suficiente fiabilidad para que los resultados obtenidos sean manejables?

¿Aportan algo?. Es decir, la medición de estos nuevos marcadores ¿nos permite aumentar nuestra capacidad predictiva, aunque sólo sea en algún subgrupo de individuos?, y en éste último caso, ¿tenemos suficientemente identificado el subgrupo de individuos en los que es útil?

¿Sabemos qué hacer con los resultados obtenidos?.

- *¿Aportan algo?*. Es decir, la medición de estos nuevos marcadores ¿nos permite aumentar nuestra capacidad predictiva, aunque sólo sea en algún subgrupo de individuos?, y en este último caso, ¿tenemos suficientemente identificado el subgrupo de individuos en los que es útil?
- *¿Sabemos qué hacer con los resultados obtenidos?*.

La respuesta a estas preguntas es crítica porque no sólo es fundamental para aceptar como marcador de riesgo cardiovascular a un nuevo candidato, sino que tiene también que servirnos para definir las condiciones en las que el mencionado marcador es potencialmente útil, ya que no todos los nuevos marcadores tienen por qué ser válidos de una forma universal.

Grupos de nuevos marcadores

La lista de posibles nuevos marcadores de enfermedad cardiovascular es inmensa, y supera con creces nuestra capacidad para analizarlos todos en este resumen. De esta manera, una posible estrategia es la de determinar grupos, con una “funcionalidad” más o menos bien definida, que nos permita investigar diferentes mecanismos en los que se integran algunas de las moléculas que han sido investigadas con esta finalidad. Sin ánimo de ser exhaustivos, las principales líneas que pueden llamar nuestra atención son las siguientes (Figura 5):

- Marcadores relacionados con el metabolismo lipoproteico. Sin duda, las alteraciones del metabolismo lipoproteico están implicadas en el desarrollo de la arteriosclerosis, y aunque determinadas magnitudes relacionadas con las lipoproteínas ya forman parte de los conocidos como FR clásicos (colesterol de LDL, colesterol de HDL), es muy probable
- que otras puedan emerger como marcadores específicos en determinados grupos de población [lipoproteínas residuales (2, 3), Lp(a) (4), LDL pequeña y densa (5-7)].
- Marcadores relacionados con la oxidación de lipoproteínas. Otro aspecto de las lipoproteínas que no depende estrictamente de alteraciones de su metabolismo sino también de su interacción con otros agentes circulantes, es el de la oxidación de las lipoproteínas (8-10) y sus marcadores [LDL oxidada, LpPLA2 (11)]. En este sentido, es conveniente recordar que la concentración de lipoproteínas oxidadas o de moléculas procedentes de las mismas, depende en gran parte del estado oxidativo del individuo y de su interacción con las lipoproteínas circulantes.
- Marcadores relacionados con situaciones proinflamatorias-antiinflamatorias (hsPCR). Los mecanismos patogénicos relacionados con situaciones proinflamatorias (12-59)

FIGURA 5 | Grupos de nuevos marcadores.

- *Marcadores relacionados con el metabolismo lipoproteico.*
- *Marcadores relacionados con la oxidación de lipoproteínas*
- *Marcadores relacionados con situaciones proinflamatorias-antiinflamatorias*
- *Marcadores relacionados con el estado nutricional (Homocisteína).*
- *Marcadores que identifican a otros procesos relacionados con la enfermedad cardiovascular*

están siendo un importante foco de atención por encontrarse relacionados con múltiples patologías, muchas de ellas relacionadas con un aceleramiento del proceso de arteriosclerosis. Por ello, no es sorprendente que marcadores relacionados con el proceso inflamatorio también estén emergiendo como posibles marcadores de riesgo de enfermedad cardiovascular.

- Marcadores relacionados con el estado nutricional (Homocisteína) (60-62). La relación de la arteriosclerosis con determinados defectos nutricionales ha hecho que también prestemos atención a los mecanismos por los cuales determinados componentes esenciales de la dieta, y sobre todo las consecuencias de las alteraciones de su ingesta, pueden influir sobre la enfermedad cardiovascular. En este grupo, sin embargo, se incluyen marcadores que si bien pueden alterarse en función de alteraciones dietéticas, también pueden alterarse como respuesta a otras circunstancias patológicas sin que haya ningún déficit dietético (como es el caso de la homocisteína).
- Marcadores que identifican a otros procesos relacionados con la enfermedad cardiovascular. Además de los grupos anteriores, están emergiendo algunos marcadores cuyas alteraciones son debidas a la existencia de otras patologías, y que de alguna manera representan un nexo de unión, no necesariamente causal, entre ambas. Entre este grupo, destacan las elevaciones de la Cistatina C. (marcador de función renal) (63-68).

Marcadores relacionados con el metabolismo lipoproteico

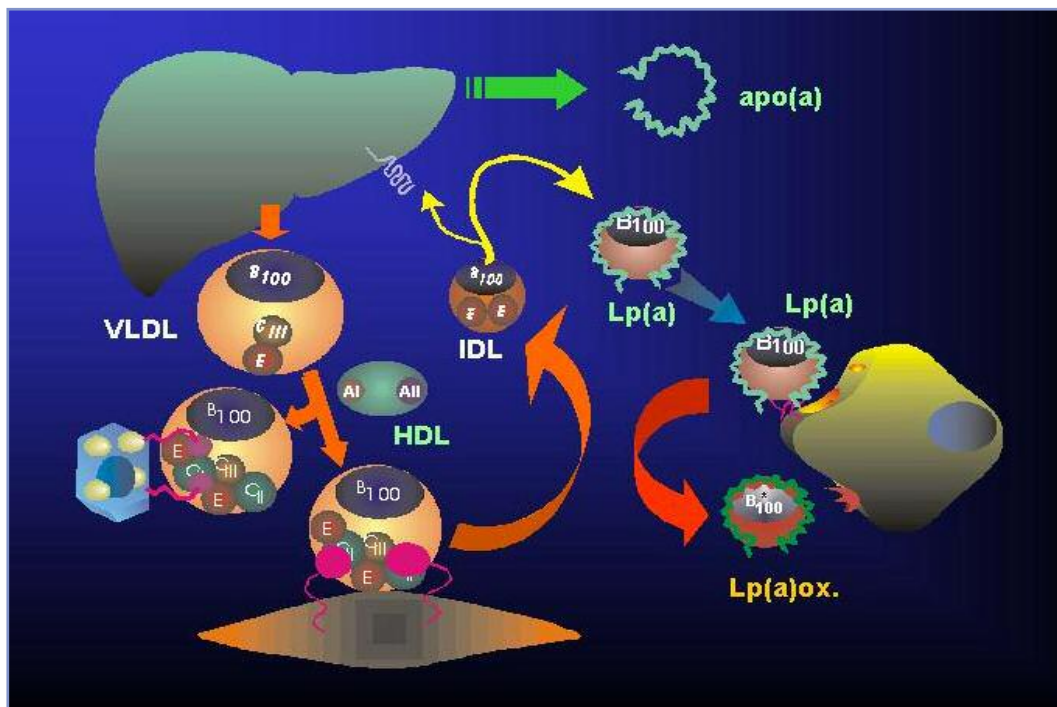
El metabolismo de las lipoproteínas es un proceso complejo del que todos los días van apareciendo nuevos conocimientos. Si bien tanto la elevación de la concentración de colesterol de LDL como el descenso de la concentración del colesterol de HDL son considerados como factores de riesgo mayores,

está claro que estos parámetros sólo son un indicador “grosero” de alteraciones del metabolismo de las lipoproteínas y, que de forma subyacente, pueden existir alteraciones específicas que tengan un mayor valor predictivo. Se han investigado muchos posibles marcadores, y en este momento existen algunos que requieren nuestra atención: las lipoproteínas residuales, la Lp(a) (una lipoproteína de la que desconocemos su función), y las LDL denominadas como pequeñas y densas.

Lipoproteínas residuales. Cuando hablamos de lipoproteínas residuales nos referimos esencialmente a partículas residuales del metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Estas partículas tienen fisiológicamente una vida media muy corta, por lo que su aparición en el plasma en ayunas siempre refleja una alteración en la velocidad de su eliminación plasmática. Por otra parte, se trata de partículas reconocidas como altamente aterogénicas (2), razón por la que su detección en concentraciones elevadas podría ser considerada como un marcador de progresión de arteriosclerosis. No obstante, cuando intentamos responder las tres preguntas claves que nos planteábamos al principio, comprobamos que no se cumple ninguna de ellas: no disponemos de métodos aplicables al laboratorio clínico (3), ni tenemos claro cómo actuar delante de unos resultados concretos. En consecuencia, y aunque desde el punto de vista de investigación clínica representa un terreno de interés, desde el punto de vista de su aplicación clínica, habrá que esperar a disponer de los medios adecuados para poder realizar su evaluación.

Lp(a). La Lp(a) es una lipoproteína formada por la unión de una partícula de LDL a una molécula de apo(a), de la que se desconoce su función fisiológica (si es que la tiene) y cuya concentración está definida genéticamente. Independientemente de su función fisiológica, sí sabemos que la apo(a) tiene una alta homología estructural con el plasminógeno, de manera que potencialmente podría interferir con alguna de sus funciones.

FIGURA 6 | Lp(a).



Desde el punto de vista metabólico, la apo(a) es sintetizada con un tamaño que depende de su estructura genética, tamaño que es el responsable de su amplia heterogeneidad (el tamaño depende del número de repeticiones de una estructura básica conocida como Kringle 4), se une en el plasma con una molécula de LDL, para formar la Lp(a), y no está perfectamente claro cuáles son sus rutas catabólicas. Desde el punto de vista fisiopatológico, parece claro que esta lipoproteína ejerce un papel proaterogénico, aunque los mecanismos del mismo pueden ser múltiples y no hay ninguno que haya podido ser bien establecido; en cualquier caso, lo que sí parece claro es que la Lp(a) que se asocia con un alto poder proaterogénico es la Lp(a) de bajo peso molecular y elevada concentración, y existen dudas de que cualquier otra combinación (tamaño/concentración) tenga un papel aterogénico similar al de la combinación mencionada (4).

La consecuencia de lo anterior es la de que la determinación únicamente de la concentración de Lp(a), no es suficiente como para detectar una situación de alto riesgo, ya que en determinadas ocasiones fisiopatológicas, una isoforma de alto peso molecular, usualmente asociada con bajas concentraciones de Lp(a), puede elevar significativamente la concentración de la misma (como en una situación de fase aguda) sin que ello conlleve un aumento del riesgo cardiovascular. Todo lo anterior nos lleva a la conclusión de que la concentración de Lp(a) por sí misma no puede ser considerada como un marcador de riesgo inequívoco (aunque en ausencia de otras modificaciones metabólicas exista una clara asociación entre tamaño y concentración), sino que las elevaciones de Lp(a) deben confirmarse con la medición de su tamaño molecular.

Éste es un punto crítico, ya que si bien existen métodos de cuantificación de la concentración de Lp(a) bien contrastados, no ocurre lo mismo con la medición de su tamaño (desde el punto de vista del laboratorio clínico), y eso hace que este marcador pierda en la práctica una buena parte de su potencial significado clínico.

Otra cuestión que no debemos olvidar, es que la Lp(a) no es más que una LDL modificada, razón por la cual, cuando medimos la concentración de LDL estamos incluyendo en el resultado de la misma el de la concentración de la Lp(a); si la presencia de una elevación de la Lp(a) supone un mayor riesgo del que supone su contribución a la concentración de LDL, es algo que, a excepción de la combinación que hemos mencionado anteriormente (alta concentración de Lp(a) de bajo tamaño), está por definir.

Otros problemas relacionados con este posible marcador, es el de que apenas disponemos de recursos que nos permitan modificar su concentración, razón por la cual no existe un acuerdo acerca de la conducta a seguir ante una elevación manifiesta de la concentración de Lp(a), a excepción de aumentar nuestra agresividad en el tratamiento de otros factores de riesgo.

Subtipos de LDL. Desde hace mucho tiempo se conoce la existencia de subpoblaciones de LDL especialmente ricas en triglicéridos: las denominadas como LDL pequeñas y densas. Esta subpoblación de LDL es característica del síndrome metabólico y suele asociarse a situaciones de resistencia a la insulina (5, 6). Estructuralmente, hoy sabemos que este tipo de LDL consiste en un grupo de partículas especialmente ricas en apoCIII, lo cual hace que sean mal metabolizables por la Lipoproteinlipasa endotelial, acumulando un exceso de triglicéridos en su estructura; así mismo, esta alteración en la composición de apolipoproteínas, también hace que tengan una mayor tendencia a oxidarse en el espacio subendotelial y a ser mal reconocidas por el receptor de LDL;

es decir, se trata de partículas más aterogénicas que la LDL normal (7). Existen múltiples estudios que certifican su poder proaterogénico, y además existen métodos utilizables en el ámbito clínico; métodos que por lo menos permiten diferenciar patrones de LDL normales de aquéllos en que existe un aumento de este tipo de LDL pequeñas y densas. No obstante, estos métodos, generalmente cualitativos o semicuantitativos, se encuentran en la frontera entre investigación y aplicación clínica, por lo que no han conseguido la suficiente expansión en los laboratorios clínicos: la consecuencia es que su utilidad clínica puede considerarse como muy limitada. Asimismo, la interpretación de los resultados de su medición no está completamente estandarizada, ni tampoco existen unas normas claras acerca de las pautas a seguir en su presencia: la conclusión es que tampoco cumplen con las condiciones como para ser considerados en la actualidad como nuevos marcadores de enfermedad cardiovascular.

Marcadores relacionados con la oxidación de lipoproteínas (Figura 7, página 88)

Independientemente de las alteraciones propias del metabolismo de las lipoproteínas, estas partículas están sometidas a múltiples agresiones físico-químicas durante su vida plasmática. Entre ellas, unas de las más estudiadas son las derivadas de su interacción con agentes prooxidantes (8, 9). Aunque las lipoproteínas contienen en su estructura diversas cantidades de moléculas antioxidantes, si la concentración de radicales libres y especies prooxidantes es lo suficientemente intensa, éstos pueden consumir los antioxidantes de las partículas y acabar modificando la estructura de las lipoproteínas: primero oxidando los lípidos transportados por las mismas y en última instancia modificando de forma irreversible la estructura de su contenido proteico.

FIGURA 7 | Marcadores relacionados con la oxidación de lipoproteínas.

➤ **Marcadores que definen la existencia de un estado prooxidativo, entre los que destaca el isoprostano, un derivado del ácido araquidónico que se sintetiza preferencialmente en una situación caracterizada por un exceso de radicales libres.**

➤ **Marcadores del estado antioxidante de las lipoproteínas, fundamentalmente de las moléculas que protegen a las lipoproteínas de la oxidación por radicales libres: Entre éstos destacan moléculas como el Coenzima Q o la vitamina E (antioxidantes específicos).**

➤ **Productos del proceso de oxidación de lipoproteínas; entre los que se encuentran el MDA (malondialdehído) o la propia LDL oxidada.**

Las consecuencias de estas modificaciones son de dos tipos: la liberación de radicales libres de ácidos grasos, por una parte, que son fuertemente tóxicos para las membranas celulares, y la producción de apolipoproteínas alteradas que no pueden ser reconocidas por sus receptores naturales, convirtiendo a las lipoproteínas que las contienen en fuertemente aterogénicas (tienen que ser eliminadas por receptores de tipo “scavenger” que son los implicados en la evolución de los macrófagos a la forma de las células espumosas características de la placa de ateroma).

Cuando hablamos de marcadores relacionados con la oxidación de lipoproteínas, nos estamos refiriendo fundamentalmente a tres tipo de marcadores:

– Marcadores que definen la existencia de un estado prooxidativo, entre los que destaca el isoprostano (10), un derivado del ácido araquidónico que se sintetiza preferentemente en una situación caracterizada por un exceso de radicales libres.

– Marcadores del estado antioxidante de las lipoproteínas, fundamentalmente de las moléculas que protegen a las lipoproteínas de la oxidación por radicales libres: Entre éstos destacan moléculas como el Coenzima Q o la vitamina E (antioxidantes específicos).

– Productos del proceso de oxidación de lipoproteínas; entre los que se encuentran el MDA (malondialdehído) o la propia LDL oxidada.

Además de los anteriores, existen otros marcadores secundarios relacionados con el proceso oxidativo como son la presencia de anticuerpos antiLDL oxidada, cuyo significado no es concluyente, isoformas específicas de Haptoglobina que “facilitarían” el proceso de oxidación, o la presencia de Lp-PLA2 (11) que colaboraría con la toxicidad de las LDL oxidadas.

No obstante, la mayoría de estos marcadores no cumplen con los requisitos necesarios para su uso clínico al no existir métodos estandarizados que permitan su uso universal.

Por otra parte, tampoco existen estudios definitivos que hagan pensar en su validez indiscutible, por lo que será necesario esperar a próximos desarrollos y estudios que aclaren su valor diagnóstico.

Marcadores relacionados con situaciones proinflamatorias-antiinflamatorias

Desde hace algún tiempo, conocemos la relación que existe entre los procesos inflamatorios y el progreso de la arteriosclerosis y de la enfermedad cardiovascular; tanto por lo que respecta al inicio y progresión de la arteriosclerosis, como por la probabilidad de que los procesos inflamatorios participen en la génesis de episodios cardiovasculares agudos (12-16).

El proceso inflamatorio juega un papel importante en la patogénesis de la arteriosclerosis y otras enfermedades crónicas y participa en algunos de los estadios del desarrollo de la placa de ateroma: desde el reclutamiento de leucocitos, hasta la inestabilización de la placa atherosclerótica. De hecho, se ha demostrado que concentraciones elevadas de determinados marcadores de inflamación son predictivas de un alto riesgo de ruptura de la placa. En la arteriosclerosis la función del endotelio se encuentra alterada (12) provocando una respuesta inflamatoria. Incluso algunos autores consideran que un proceso inflamatorio crónico puede estar detrás (como uno de agentes patológicos propiamente dichos) de la misma arteriosclerosis. En cualquier caso, la alteración del endotelio relacionada con el proceso inflamatorio, promueve la expresión de moléculas de adhesión, que a su vez participan en el reclutamiento de leucocitos (incluyendo monocitos) que penetran en la íntima, predisponiendo a la pared del vaso al acúmulo de lípidos. Los propios mediadores de la inflamación incrementan la captación de lipoproteínas modificadas por macrófagos y su evolución a células espumosas.

Por su parte, las células T también penetran en la íntima y segregan citocinas con la consiguiente amplificación del proceso inflamatorio y favorecen la migración y proliferación de células musculares lisas. En fases avanzadas del proceso, los mediadores inflamatorios pueden participar en el debilitamiento de la capa fibrosa de la lesión ateromatosa y facilitar su ruptura, desencadenando los accidentes coronarios agudos.

Diversos marcadores ya establecidos o que pueden ser considerados como emergentes, cumplen algunos de los criterios establecidos anteriormente (Figura 8, página 90), si bien pocos de ellos pueden ser considerados como útiles desde el punto de vista clínico. De hecho, a excepción de la hs-PCR (Proteína C reactiva de alta sensibilidad), ninguno ha demostrado un valor predictivo añadido al que obtenemos de la aplicación de la escala de riesgo de Framingham y pocos han superado la fase de estar disponibles como ensayos estandarizados comercialmente y con técnicas que demuestren un error total lo suficientemente bajo como para poder ser utilizados en la clínica diaria.

Entre estos marcadores se incluye la interleucina 6, la interleucina 18, la molécula de adhesión intercelular soluble 1 (sICAM), el componente sérico del amiloide (SAA), la mieloperoxidasa y sobre todo la proteína C Reactiva (PCR).

Proteína C Reactiva de alta sensibilidad

La proteína C-Reactiva (PCR) es el mejor marcador de inflamación conocido actualmente y ha emergido como un potencial marcador de riesgo cardiovascular (17). La proteína C-Reactiva es una proteína formada por 5 subunidades de 23 kDa, unidas entre sí formando un pentámero cíclico (pentrexina) y que juega un papel en el sistema inmunológico innato del individuo (18).

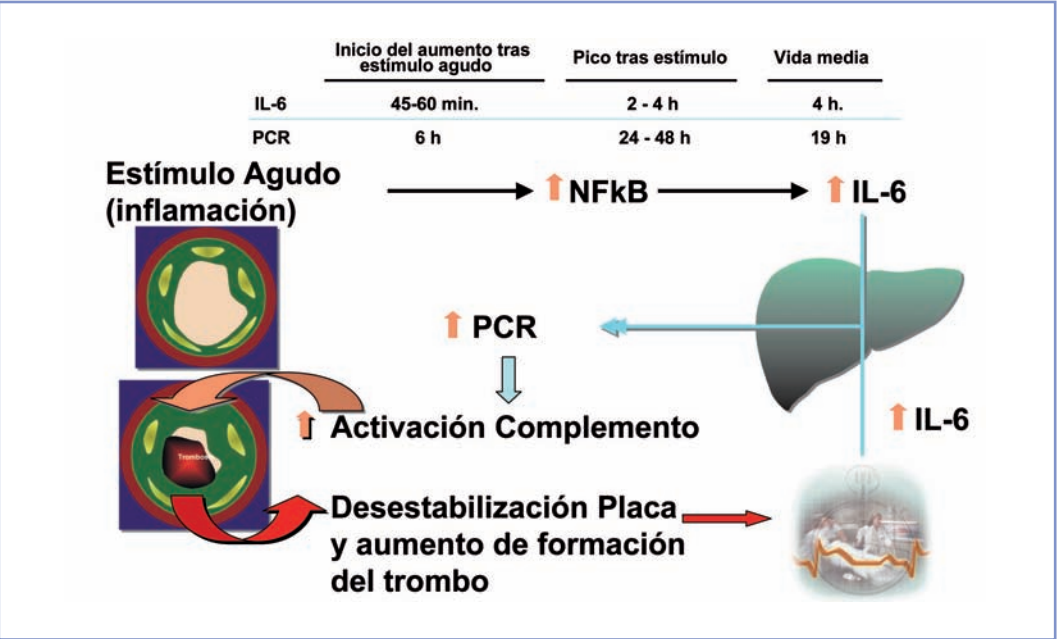
FIGURA 8 | Marcadores relacionados con situaciones proinflamatorias-antiinflamatorias

Nuevos marcadores de enfermedad cardiovascular

Marcadores relacionados con inflamación

Marcador	Potencia de estudios prospectivos	Ensayo comercial disponible	Añade valor a determinaciones lipídicas	Añade valor a la estimación de riesgo (ATPIII)
hsPCR	++++	+++	+++	++
sICAM-1	++	+/-	+	-
SAA	++	-	+	-
IL- 6	++	-	+	-
IL-18	++	-	+	-
Mieloperoxidasa	+	-	+/-	-
Ligando sCD40	+	-	-	-

FIGURA 9 | Proteína C Reactiva.



Se expresa fundamentalmente en el hígado como una proteína de fase aguda (Figura 9), pero no exclusivamente: también puede expresarse en la célula muscular lisa de las arterias coronarias humanas y en especial en vasos alterados (enfermos) (19, 20).

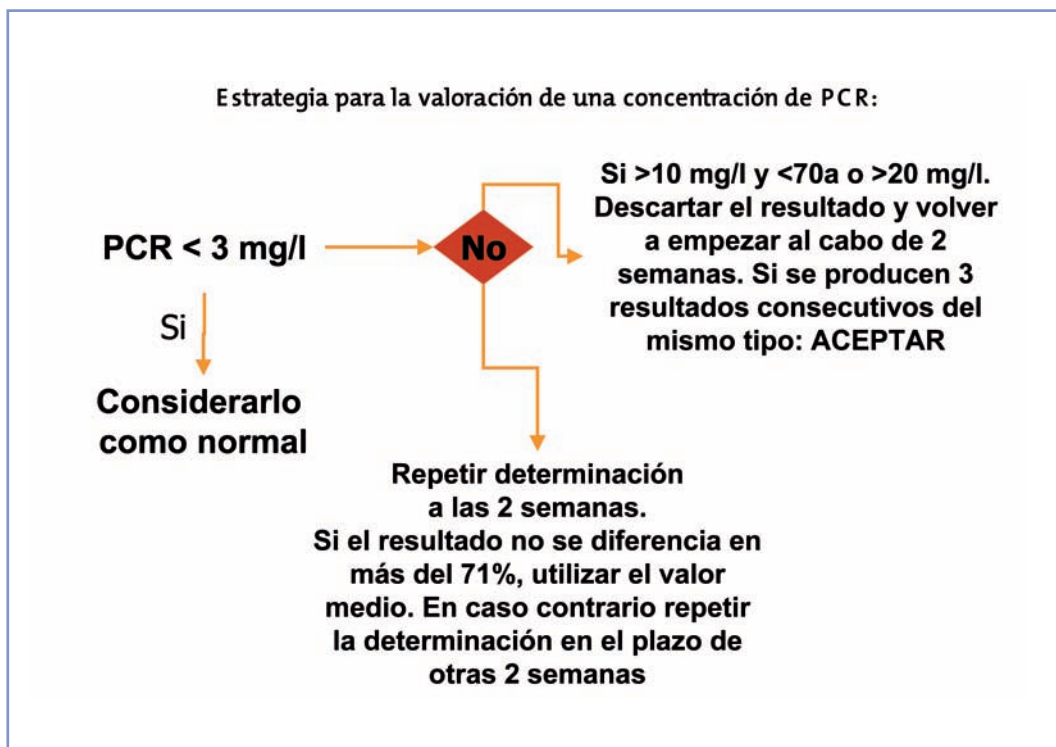
La PCR puede influir en la expresión de moléculas de adhesión, modificar la fibrinólisis y la disfunción endotelial (21).

Desde el punto de vista de práctica clínica, la PCR puede ser medida por diversos ensayos comerciales validados y bien estandarizados que cumplen todos los requisitos para ser utilizados en la práctica clínica (Figura 10). Como veremos más adelante, existen múltiples estudios epidemiológicos y prospectivos que han demostrado que la concentración de hs-PCR es un buen predictor del riesgo

cardiovascular (IAM, AVC, enfermedad arterial periférica, muerte súbita, incluso en individuos aparentemente sanos), e independiente del resto de factores de riesgo (22). Es más, en diversos estudios, la concentración de hs-PCR ha demostrado añadir valor predictivo al de la concentración de colesterol de LDL (sin correlacionarse con la misma) a todos los niveles de riesgo estimados con la escala de Framingham; incluso, aquellos individuos con concentraciones elevadas de hs-PCR y bajas de c-LDL se encuentran en un mayor nivel de riesgo que los que presentan concentraciones elevadas de c-LDL y bajas de hs-PCR.

La concentración de hs-PCR es específica para la predicción del riesgo cardiovascular y no predice mortalidad no-cardiovascular ni desarrollo de procesos inflamatorios clásicos (23).

FIGURA 10 | Proteína C Reactiva.



Debido en gran parte a la cantidad de evidencia disponible por el momento, recientemente la AHA y el CDC han lanzado unas guías clínicas para el uso de la concentración de hs-PCR y han sugerido la estratificación del riesgo atribuible a este marcador en diferentes niveles: deseable, cuando la concentración de hs-PCR es inferior a 1 mg/l, de riesgo moderado cuando su concentración se encuentra entre 1 y 3 mg/l y de alto riesgo cuando ésta supera los 3 mg/l (24).

También se recomienda que la determinación de hs-PCR se realice a discreción del médico, como parte de la evaluación del riesgo global y en ningún caso como sustitución del perfil lipídico (c-LDL, cHDL, Triglicéridos). La relación entre hs-PCR y el riesgo cardiovascular parece ser lineal a lo largo de un amplio rango de valores, de manera que el riesgo de un individuo con una concentración de hs-PCR de más de 10 mg/l es superior al de un individuo con una concentración de hs-PCR entre 3 y 5 mg/l.

Valor predictivo de la PCR

La proteína C Reactiva (PCR) es un reactante de fase aguda que ha demostrado en estudios prospectivos de cohortes el hecho de ser un buen marcador de la inflamación sistémica subyacente y con una fuerte capacidad predictiva de accidentes coronarios agudos y accidentes vasculares cerebrales. Si bien la concentración de PCR puede aumentar hasta 1.000 veces en respuesta a diversos estímulos agudos, como infecciones o politraumatismos, en ausencia de éstos mantiene sus concentraciones estables durante largos periodos de tiempo. En individuos asintomáticos, las concentraciones relativamente elevadas (dentro del rango considerado como "normal") de PCR han demostrado ser un potente predictor de futuros accidentes cardiovasculares, independientemente del impacto del resto de factores de riesgo (17),

sobre todo cuando se miden con métodos de alta sensibilidad (hs-PCR) que son capaces de discriminar adecuadamente los valores obtenidos en el rango de 0,1-10 mg/l. Además, esta capacidad predictiva lo es a medio y largo plazo, tal y como ha mostrado el Honolulu Heart Study, en el que la concentración de PCR seguía teniendo valor predictivo tras 20 años de seguimiento de la cohorte (25).

De hecho, existen múltiples estudios que apoyan el papel de la determinación de la hs-PCR como predictor de accidentes cardiovasculares. Veamos algunos de ellos.

En un estudio de 302 autopsias de pacientes de ambos sexos, cuya única razón para una situación inflamatoria era la presencia de arteriosclerosis, se midió la concentración de hs-PCR en sangre y se correlacionó con la causa de muerte y con el estado de las arterias coronarias: las concentraciones menos elevadas de hs-PCR fueron las encontradas en pacientes que murieron por causas no cardíacas (26). Los pacientes con placas estables presentaban concentraciones moderadamente elevadas, aquéllos con placas erosivas presentaban mayores elevaciones, y las concentraciones más elevadas de hs-PCR se encontraron en pacientes con ruptura de placas.

Una proporción importante de los individuos que mueren súbitamente por causas cardíacas no tienen una historia previa de enfermedad coronaria. En un estudio reciente, la concentración basal de hs-PCR se asoció significativamente con el riesgo de muerte súbita en un periodo de seguimiento de 17 años (27), con un aumento del riesgo relativo de 2,78 veces en los individuos situados en el cuartil superior de hs-PCR.

En prevención secundaria se realizó un estudio anidado dentro de la cohorte del estudio CARE comparando las concentraciones de hs-PCR y de SAA de 391 individuos que sufrieron un accidente coronario (28) agudo durante el seguimiento de la cohorte,

con 391 individuos emparejados por edad y sexo con los anteriores y que no desarrollaron un nuevo accidente coronario. Las concentraciones basales de ambos marcadores fueron significativamente superiores en los casos que en los controles, de manera que en aquellos individuos que se situaban en el cuartil superior la incidencia de nuevos accidentes coronarios era un 75% superior a la observada en los que se situaban en el cuartil inferior.

Por lo que respecta a prevención primaria, también existen múltiples estudios que indican que la concentración de hs-PCR es un fuerte predictor de accidentes coronarios, incluso después de ajustar los factores de riesgo clásicos.

Entre los diversos estudios que demuestran este valor predictivo se encuentra el Physicians Health Study (29). En el grupo placebo de este estudio pudo observarse que tras un promedio de seguimiento de 8 años, las concentraciones basales de hs-PCR de aquellos individuos que desarrollaron algún accidente cardiovascular eran más elevadas que las de los que permanecían libres de accidentes. Es más, los hombres cuya concentración basal de hs-PCR se situaba en el cuartil superior, tenían un riesgo de IAM de tres veces y de AVC de dos veces más alto que los que tenían una hs-PCR situada en el cuartil inferior. Estos niveles de riesgo eran estables en el tiempo e independientes de otros factores de riesgo lipídicos o no lipídicos.

En mujeres, la concentración de hs-PCR también demostró ser fuertemente predictiva de accidentes coronarios: en el estudio Women's Health Initiative (30), sobre más de 70.000 mujeres sin historia previa de enfermedad coronaria, tras varios años de seguimiento se analizó la concentración basal de hs-PCR e IL-6 en 304 mujeres que habían padecido un episodio coronario agudo y en 304 emparejadas por edad y otros factores de riesgo y que permanecían libres de enfermedad coronaria.

Los valores basales de hs-PCR y de IL-6 de aquellas personas que habían padecido un accidente coronario eran significativamente superiores a los de las que permanecían sin accidentes coronarios, demostrándose que la elevación de ambos marcadores se asociaba con un aumento de dos veces del riesgo cardiovascular en estas mujeres.

En un análisis post-hoc del estudio de prevención primaria AFCAPS/TexCAPS (Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study), se analizó la concentración de hs-PCR en condiciones basales y tras un año de tratamiento con lovastatina frente a placebo en un total de 5.742 individuos con concentraciones de colesterol consideradas como medias, pero con concentraciones bajas de colesterol de HDL (31).

En este estudio pudo comprobarse que el tratamiento con lovastatina reducía la concentración de hs-PCR en un 14,8% ($p < 0,001$). Como era de esperar, el tratamiento con lovastatina se asoció con una disminución de los accidentes coronarios en los individuos con concentraciones relativamente más elevadas de colesterol, independientemente de la concentración de hs-PCR. Sin embargo, en aquellos individuos con concentraciones relativamente bajas de colesterol de LDL, la medición de la hs-PCR aportó información adicional: en aquellos en que las concentraciones plasmáticas, tanto de la hs-PCR como del c-LDL, no se obtuvo ningún beneficio con la administración de lovastatina; ahora bien, en aquellos individuos con bajas concentraciones de c-LDL pero altas de hs-PCR, el riesgo relativo de un accidente coronario disminuyó significativamente con la lovastatina (RR de 0,58 frente al placebo), lo cual significa que la determinación de la concentración de hs-PCR añade información predictiva a la que obtenemos de los parámetros lipídicos por sí mismos (31).

Por otra parte, en el estudio de Salud Cardiocasvular (Cardiovascular Health Study) (32) se demuestra que la elevación de la concentración de hs-PCR en personas (hombres y mujeres) de edad avanzada (> 65 años) se asocia con un aumento del riesgo de accidentes coronarios en los 10 años siguientes, independientemente del resto de factores de riesgo.

Así pues, podemos observar que la concentración de hs-PCR se comporta como un buen marcador predictivo de accidentes cardiovasculares en prevención primaria, con un valor aditivo al del resto de factores de riesgo conocidos, incluso en personas mayores.

La PCR como agente patogénico

Aparte de los estudios que han identificado a la PCR como un macador de riesgo de accidentes cardiovasculares en individuos aparentemente sanos y como de valor pronóstico en pacientes con historia previa de enfermedad cardiovascular, también existen indicios de que la propia PCR puede ser algo más que un marcador sustitutivo de la acción de IL-6 u otros iniciadores del proceso inflamatorio.

Algunos estudios han dirigido su atención al papel proinflamatorio de la PCR, otorgándole un papel patogénico en la aterogénesis y aterotrombosis. De hecho, se conoce desde hace muchos años que una de las acciones de la PCR es la activación de complemento con todos los efectos proinflamatorios de esta activación (32, 33). Además, sabemos que la PCR se une con alta afinidad a diversas moléculas como lisofosfatidilcolina, la membrana plasmática de células dañadas, partículas de ribonucleoproteínas nucleares y células apoptóticas. Es cierto, que en circunstancias no patológicas la accesibilidad de esas moléculas a la PCR es mínima, pero que en determinadas situaciones más o menos anormales puede aumentar y formar parte de su mecanismo patogénico (34).

De esta manera se han planteado diversas hipótesis sobre los mecanismos de los efectos nocivos de la PCR (35).

En condiciones normales la membrana celular tiene una estructura asimétrica, en virtud de la cual los residuos de fosfatidilcolina se sitúan en la hoja intra-celular de la bicapa; en estas circunstancias, la fosfatidilcolina no es accesible a las fosfolipasas extracelulares y en consecuencia no se forma la lisolecitina que es el ligando de la PCR. En una situación de isquemia o en cualquiera en que la célula pueda perder su capacidad para mantener la asimetría de la membrana, la fosfatidilcolina se redistribuye entre las hojas interna y externa de la misma, quedando accesible a la acción de fosfolipasas extracelulares. La interacción de la sPLA2 y quizás de la Lp-PLA2 con la fosfatidilcolina, induce la formación de lisofosfatidilcolina, que es un buen sustrato para la PCR, y en su presencia puede formar complejos que activan complemento y facilitan la fagocitosis de las células unidas de la manera descrita a la PCR (35).

Este concepto acerca de que la propia PCR puede contribuir significativamente en la patogenia de la arteriosclerosis se ha alimentado adicionalmente de los datos de estudios en los que la PCR ha demostrado efectos proinflamatorios "in vitro". No obstante, la mayor parte de los estudios publicados han utilizado una PCR comercial y no se han establecido los controles que aseguren que los efectos son debidos a la propia PCR y no a algún contaminante de las preparaciones utilizadas (36). En ensayos "in vivo" en animales de experimentación, la administración de PCR humana normal no produce en sí misma ningún efecto, no obstante cuando lo que se administra es PCR de origen bacteriano (recombinante) se induce un efecto proinflamatorio agudo (37). De cualquier manera, lo que sí parece claro es que la PCR por sí misma y sin la ayuda de otros efectores no parece tener efectos nocivos,

pero que en determinadas circunstancias sí puede ejercer los efectos proinflamatorios antes mencionados (probablemente a través de algún mecanismo como el descrito). De hecho, el efecto patogénico de la PCR humana en la rata con un modelo de IAM se evita completamente con la depleción del complemento (38); no obstante, el efecto patogénico sólo se observa en ratas sometidas a isquemia: la administración de PCR a ratas sanas no produce ningún efecto (38, 39).

Dentro del mismo contexto que estamos considerando estarían los datos que indican que la intensidad de la elevación de la PCR en la fase aguda del IAM o ACV son predictivas de la evolución del paciente, y que en las lesiones características del IAM se encuentra PCR codepositada con complemento activado (35). Es posible que la PCR ejerza en humanos el mismo efecto observado previamente en ratas, y que la inhibición de este efecto pueda llegar a constituir una buena diana terapéutica, de manera que la inhibición farmacológica [existen diversos desarrollos en curso (40)] de los efectos de la PCR pueda constituir un buen mecanismo cardioprotector o cerebroprotector en pacientes que están sufriendo un IAM o un ACV.

Modificación de la concentración de PCR

A pesar de los múltiples estudios realizados sobre el valor predictivo de la hs-PCR, no existen evidencias incontestables de que el descenso de la concentración plasmática de esta proteína suponga necesariamente una mejora en el nivel de riesgo cardiovascular (41). No obstante, muchas de las actuaciones que han demostrado su valor como medidas preventivas, como el abandono del tabaco, el ejercicio físico o la pérdida de peso, tienen el efecto de disminuir también la concentración de hs-PCR.

En el caso de las estatinas, observamos una respuesta especial: la concentración de hs-PCR desciende significativamente con el uso de este grupo de fármacos, y este descenso podría estar relacionado con los denominados efectos pleiotrópicos de las estatinas (31, 42); de hecho, algunos estudios parecen indicar que el efecto preventivo de las estatinas es mayor en individuos con elevaciones de la concentración de hs-PCR, aunque estos efectos se correlacionen mejor con los accidentes clínicos que con cambios morfológicos en las lesiones arteromatosas (43).

No obstante, no todos los estudios están de acuerdo con el valor añadido que representa la medición de la hs-PCR. Una de las razones de este desacuerdo, puede estar en el hecho de que existen múltiples condicionantes en la variabilidad intraindividual de la PCR (adiposidad, inflamación aguda, HTA, etc.), y que algunos de ellos pueden confundir el valor independiente de esta proteína como marcador de riesgo cardiovascular. Además, tal y como comentamos previamente, la capacidad de la PCR para actuar como agente lesivo por sí misma, no depende sólo de su concentración sino de determinadas características metabólicas del huésped que lo hacen susceptible a la elevación de la concentración de PCR.

Por estos motivos, y sin despreciar el valor epidemiológico de la elevación de la concentración de PCR, es posible que en un futuro próximo pueda llegarse a la conclusión de que la valoración de hs-PCR como marcador de riesgo deba realizarse dentro del contexto individual de cada paciente.

Otros marcadores de inflamación

Además de los mencionados hasta ahora, existen otros múltiples marcadores de inflamación que potencialmente podrían incluirse en la predicción del riesgo coronario.

Por una parte, el fibrinógeno, que es un importante reactante de fase aguda y del que múltiples estudios epidemiológicos han demostrado su valor predictivo de futuros accidentes coronarios y cerebrovasculares (44-47). No obstante, en comparaciones directas, el fibrinógeno ha demostrado ser un predictor más débil que la concentración de hs-PCR (48) con la desventaja adicional de ser una medición peor estandarizada. Por otra parte, los ensayos clínicos que han incluido el descenso de la concentración de fibrinógeno dentro de sus objetivos no han coseguido demostrar su eficacia con respecto al descenso de accidentes coronarios (49), aunque los análisis de subgrupos permiten intuir la posibilidad de su eficacia en poblaciones específicas (pacientes diabéticos o hipertriglicéridémicos) sobre las que se están desarrollando estudios más dirigidos, con fenofibrato, para comprobar su eficacia.

Por otra parte se encuentra un grupo de moléculas, además de las citocinas de las que ya hemos hablado previamente, que podrían ofrecer alguna información adicional: entre ellas se encuentran las moléculas de adhesión ICAM-1, VCAM-1, la P-Selectina, el ligando soluble del CD40 (50-54) y la recientemente estudiada fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas (Lp-PLA2) (55-58). Con la excepción del fibrinógeno y la recientemente introducida Lp-PLA2, el nivel de evidencia del poder predictivo de estos marcadores de inflamación en estudios poblacionales es aún muy limitado. Existen algunos datos que vale la pena comentar: así, la concentración de mieloperoxidasa (MPO) puede diferenciar a pacientes de alto riesgo y bajo riesgo entre los que ingresan por un dolor precordial, incluso cuando la concentración de troponina (cTnI) es baja (59). Es posible que en el futuro y con la adecuada estandarización, algunos de estos marcadores puedan ser incluidos en la evaluación de los síndromes coronarios agudos.

Un caso aparte es el representado por la concentración de Lp-PLA2, de la que existen diversos estudios que parecen otorgarle un importante e independiente valor como predictor de futuros accidentes coronarios. La fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas es una molécula que se encuentra asociada a la LDL y parece actuar rompiendo los fosfolípidos oxidados en el radical libre (producto de la oxidación) y la correspondiente lisofosfatidilcolina. El radical libre formado es tóxico para las células, mientras que la lisofosfatidilcolina podría estar implicada en interacciones de la LDL con otras proteínas, como la propia PCR, poniendo en marcha la activación de complemento y “cooperando” en los efectos negativos de esta última (60, 61). De cualquier manera y tal y como hemos visto previamente en los posibles mecanismos patológicos de la PCR, la Lp-PLA2 por sí misma no ejerce ningún efecto negativo y es necesario que concurren otras circunstancias para que su presencia (y en mayor medida cuanto mayor sea su concentración) pueda desencadenar fenómenos perjudiciales y relacionados con la progresión de la arteriosclerosis, entre los que destaca el aumento de la oxidación de lipoproteínas y probablemente también la presencia de elevadas concentraciones de PCR.

Así, en un subestudio del estudio WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study) se analizaron diversos marcadores de inflamación como posibles predictores de riesgo en pacientes hipercolesterolémicos sin historia previa de enfermedad coronaria y que fueron tratados alternativamente con pravastatina o placebo (55). Un total de 580 hombres padecieron un accidente cardiovascular (IAM, muerte cardiovascular o necesidad de un procedimiento de revascularización) y cada uno de ellos fue emparejado con dos controles de la misma edad y con similar consumo de tabaco, de la misma cohorte y que no habían padecido ningún accidente cardiovascular.

En todos ellos se midió la concentración de Lp-PLA2, hs-PCR y fibrinógeno, en una muestra obtenida al principio del estudio, junto con otros factores de riesgo tradicionales. Todos los marcadores de inflamación se asociaron con el riesgo de accidentes coronarios. No obstante, tan sólo la Lp-PLA2 permanecía como un fuerte predictor cuando se ajustaron los análisis para la edad, tensión arterial sistólica y concentraciones de lipoproteínas en análisis multivarados.

En el estudio ARIC (56) (Atherosclerosis Risk in Communities) se estudiaron 12.819 individuos de edades comprendidas en el momento del inicio del estudio entre los 45 y 65 años. Tras un periodo de seguimiento de aproximadamente 6 años, se produjeron 608 casos de accidentes coronarios que fueron estudiados de forma comparativa con 740 individuos de características similares y que no habían sufrido ningún problema cardiovascular. En todos ellos se midió la concentración de Lp-PLA2, hs-PCR y otros factores de riesgo clásicos entre los que se encontraban las principales lipoproteínas. Los resultados demostraron que la concentración de Lp-PLA2 era significativamente superior en los casos que en los controles. Es más, en aquellos cuyas concentraciones de c-LDL eran inferiores a 130 mg/dl, las concentraciones de Lp-PLA2 se asociaron independientemente con la aparición de enfermedad cardiovascular, incluso después del ajuste por los factores de riesgo clásicos y la concentración de hs-PCR.

En la subcohorte alemana del estudio MONICA (57) (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Diseases) 934 hombres aparentemente sanos fueron seguidos durante 14 años, apareciendo un total de 97 casos de accidentes coronarios. En este estudio también pudo demostrarse que la concentración basal de Lp-PLA2 era predictiva de futuros accidentes coronarios en hombres de edad media y con concentraciones de colesterol sólo moderadamente elevadas.

En este caso las elevaciones de Lp-PLA2 no se correlacionaron con las concentraciones de hs-PCR y su capacidad predictiva se mostró como aditiva a la representada por este último marcador.

Estudios recientes (58), también parecen demostrar el valor predictivo de la concentración de Lp-PLA2 sobre los accidentes cerebrovasculares, incluso los de origen hemorrágico. No obstante, y a pesar de que la determinación de Lp-PLA2 ya ha sido aprobada por la FDA para su uso como predictor de enfermedad cardiovascular, de momento su disponibilidad es muy limitada y está restringida a unos pocos laboratorios de referencia, razón por la que se hace muy difícil considerarla como un parámetro útil desde el punto de vista clínico.

Marcadores relacionados con el estado nutricional

Éste es un grupo complejo ya que incluye a múltiples moléculas sometidas a una amplia variación intra e interindividual, lo que hace que su validación como marcadores de riesgo cardiovascular sea extraordinariamente complicada. Una excepción es la representada por la homocisteína. La homocisteína es un intermediario metabólico que participa en los procesos de metilación-desmetilación y que aumenta su concentración plasmática por diversos motivos, entre los que se encuentran los déficit de ácido fólico o vitamina B12 (fundamentalmente de origen nutricional) (60, 61), pero también por alteraciones genéticas de los enzimas que participan en su metabolismo, o por otras alteraciones que inciden en la velocidad de su catabolismo y eliminación (insuficiencia renal). Los mecanismos por los que la homocisteína participa en el proceso de la arteriosclerosis no están perfectamente claros, pero además de su efecto directo sobre la pared endotelial no hay que descartar que el desequilibrio homocisteína-S-Adenosilmetionina (SAM) pueda alterar la velocidad

de metilación de diversas moléculas entre las que destaca el ADN (62) y más concretamente zonas de control de la expresión genética en el mismo (zonas ricas en CpG).

En cualquier caso, existen múltiples estudios que relacionan la elevación de la concentración de homocisteína con un aumento de la progresión de la arteriosclerosis, y aunque no sea fácil aislar el valor independiente de la homocisteína, al estar sus elevaciones con frecuencia asociadas a otras alteraciones metabólicas, sí parece claro que la elevación de la concentración de homocisteína puede ser considerada como un factor de riesgo emergente de ECV y en este caso sí se cumplen casi todos los principios enumerados al inicio de esta revisión: existen métodos de determinación accesibles al laboratorio clínico, con unas características aceptables de practicabilidad, y los resultados obtenidos pueden ser interpretados adecuadamente en relación con unos valores de referencia bien establecidos (valores normales inferiores a 15 $\mu\text{mol/l}$). Incluso existen recomendaciones para su uso como FR emergente y la posibilidad de incidir nutricionalmente en sus concentraciones (ácido fólico y vitamina B12), si bien no existen evidencias claras de que esta intervención específica sea eficaz.

Marcadores que identifican a otros procesos relacionados con la enfermedad cardiovascular

Además de todos los candidatos a marcadores de riesgo de ECV analizados hasta ahora en esta revisión, existen otros cuyo valor independiente no está claro, pero que sí aportan un gran valor al desenmascarar a otros procesos patológicos que en sí mismos (y no siempre a través de mecanismos conocidos) están relacionados con un aceleramiento de la ECV (63-68).

Uno de los casos más destacados es el representado por la cistatina C. La cistatina C es una proteína básica de bajo peso molecular (Figura 11), de síntesis constante (no se conocen circunstancias

que modifiquen su velocidad de síntesis), que en condiciones normales se filtra completamente en el glomérulo renal, y que es degradada posteriormente por los túbulos renales (no existe reabsorción de la misma); por este motivo se ha erigido como un buen marcador de función renal, permitiendo una estimación fiable del filtrado glomerular a través de la medición de su concentración plasmática (probablemente incluso más fiable que el propio aclaramiento de creatinina); una concentración plasmática superior a 0,99 mg/l indica que el filtrado glomerular es inferior a 80 ml/min, y en consecuencia que empieza a existir un deterioro de la función renal, a pesar de que la concentración de creatinina se encuentre dentro de los límites considerados como normales.

Recientemente han aparecido algunos estudios que relacionan la elevación de la concentración de cistatina C con un aumento de mortalidad total y especialmente de mortalidad de origen cardíaco (Figura 12), si bien no queda perfectamente claro si la elevación de cistatina C tiene algún efecto por sí misma o simplemente está reflejando el impacto de la insuficiencia renal (65, 66), muchas veces oculta al no acompañarse de una elevación de la concentración de creatinina (67), sobre la enfermedad cardiovascular.

Éste es un tema candente que requiere de un mayor volumen de información para que podamos validar su significado clínico, y si situaciones de IRC que la creatinina no es capaz de detectar, ya suponen un aumento del riesgo de deterioro cardíaco. De hecho, en los estudios referidos, la asociación de la elevación de cistatina C con la mortalidad ya es relevante para ligeras elevaciones de cistatina C (68).

Lo que sí es cierto, es que la determinación de cistatina C está al alcance de la mayoría de laboratorios clínicos, por lo que de confirmarse esta relación, podría convertirse en un parámetro de gran utilidad clínica.

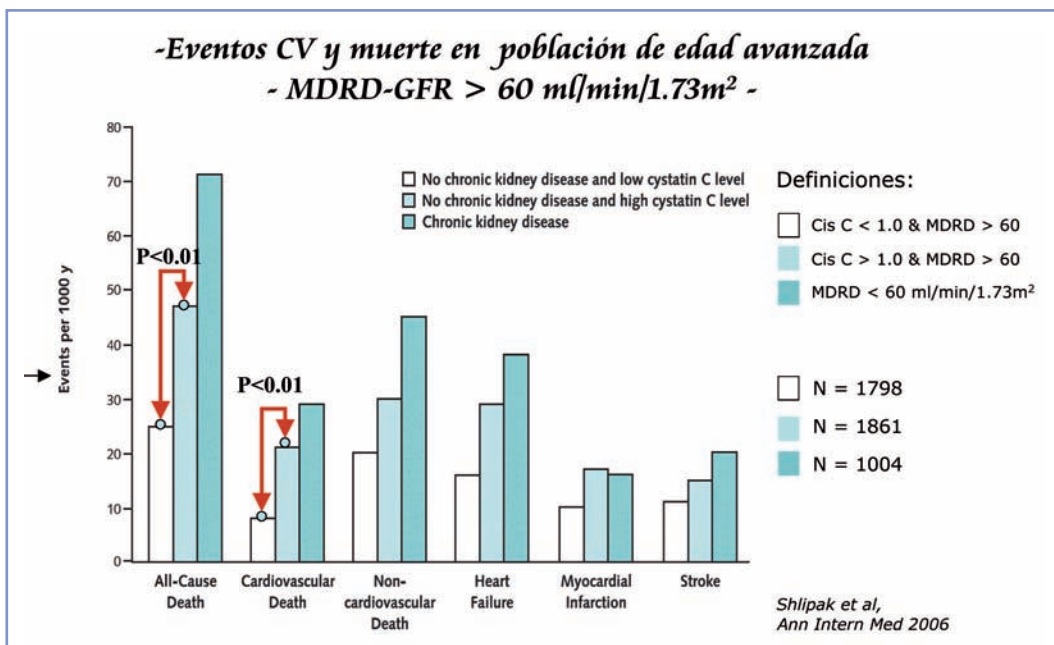
FIGURA 11 | Marcadores que identifican a otros procesos relacionados con la enfermedad cardiovascular.

❁ ¿Qué es la Cistatina C?

- Cadena polipeptídica única (120aa). No glicosilada. 10 isoformas.
- Mm=13359g/mol. Básica: pI=9,3.
- Objetivos: Papaina y catepsinas B, H, L y S.
- Gen: CST3. Situación: 20p11.2.
- Protección del tejido conectivo. Inhibe la replicación viral y la liberación de calcio por la PTH. Inhibidora de Cistein proteasas. (MMPs)
- Sinónimos: γ -trace proteínas, post- γ -globulina

Hall, J Biol Chem, 1995 Nature 414, 1999

FIGURA 12 | Marcadores que identifican a otros procesos relacionados con la enfermedad cardiovascular.



Bibliografía

1. Zaninotto M, Mion MM, Novello E, Altinier S, Plebani M. New biochemical markers: from bench to bedside. *Clin Chim Acta*. 2007; 381(1):14-20.
2. Wheeler-Jones CP. Chylomicron remnants: mediators of endothelial dysfunction? *Biochem Soc Trans*. 2007; 35 (Pt 3): 442-5.
3. Nakada Y, Kurosawa H, Tohyama J, Inoue Y, Ikewaki K. Increased remnant lipoprotein in patients with coronary artery disease-evaluation utilizing a newly developed remnant assay, remnant lipoproteins cholesterol homogenous assay (RemL-C). *J Atheroscler Thromb*. 2007; 14 (2): 56-64.
4. Koschinsky ML. Lipoprotein(a) and atherosclerosis: new perspectives on the mechanism of action of an enigmatic lipoprotein. *Curr Atheroscler Rep*. 2005; 7 (5): 389-95.
5. Nozue T, Michishita I, Ishibashi Y, Ito S, Iwaki T, Mizuguchi I, Miura M, Ito Y, Hirano T. Small dense low-density lipoprotein cholesterol is a useful marker of metabolic syndrome in patients with coronary artery disease. *J Atheroscler Thromb*. 2007; 14 (4): 202-7.
6. Rizzo M, Pernice V, Frasher A, Berneis K. Atherogenic lipoprotein phenotype and LDL size and subclasses in patients with peripheral arterial disease. *Atherosclerosis*. 2007 May 5; [Epub ahead of print].
7. Moon JY, Kwon HM, Kwon SW, Yoon SJ, Kim JS, Lee SJ, Park JK, Rhee JH, Yoon YW, Hong BK, Rim SJ, Kim HS. Lipoprotein(a) and LDL Particle Size Are Related to the Severity of Coronary Artery Disease. *Cardiology*. 2007; 108 (4): 282-289.
8. Tsimikas S. Oxidative Biomarkers in the Diagnosis and Prognosis of Cardiovascular Disease. *Am J Cardiol* 2006; 98 [suppl]: 9P-17P.
9. Pennathur S, Heinecke JW. Oxidative stress and endothelial dysfunction in vascular disease. *Curr Diab Rep*. 2007 (4): 257-64.
10. Patrignani P, Tacconelli S. Isoprostanes and other markers of peroxidation in atherosclerosis. *Biomarkers*. 2005; 10 Suppl 1: S24-9
11. Zalewski A, Nelson JJ, Hegg L, Macphee C. Lp-PLA2: a new kid on the block. *Clin Chem*. 2006; 52 (9): 1645-50.
12. Willerson JT, Ridker PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation*. 2004; 109 (21 Suppl 1): I12-10.
13. Kinlay S, and Egido J, Inflammatory Biomarkers in Stable Atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2006; 98 [suppl]: 2P-8P.
14. Ben-Yehuda O, High-Sensitivity C-Reactive Protein in Every Chart?. The Use of Biomarkers in Individual Patients. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 2139-41.
15. Ridker P, C-Reactive Protein and the Prediction of Cardiovascular Events Among Those at Intermediate Risk. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 2129-38.
16. Blake GJ, Ridker PM. Novel Clinical Markers of Vascular Wall Inflammation. *Circ Res*. 2001;89: 763-771.
17. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003; 107: 363-369.
18. Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med*. 2000; 32: 274-278.
19. Jabs WJ, Theissing E, Nitschke M, Bechtel JF, Duchrow M, Mohamed S, Jahrbeck B, Sievers HH, Steinhoff J, Bartels C. Local generation of C-reactive protein in diseased coronary artery venous bypass grafts and normal vascular tissue. *Circulation*. 2003; 108: 1428-1431.
20. Calabro P, Willerson JT, Yeh ET. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation*. 2003; 108: 1930-1932.
21. Szmítko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation*. 2003; 108: 1917-1923.
22. Torres JL, Ridker PM. Clinical use of high-sensitivity C-reactive protein for the prediction of adverse cardiovascular events. *Curr Opin Cardiol*. 2003; 18: 471-478.
23. Tice JA, Browner W, Tracy RP, Cummings SR. The relation of C-reactive protein levels to total and cardiovascular mortality in older U.S. women. *Am J Med*. 2003; 114: 199-205.
24. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M et al. Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for health care professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003; 107: 499-511.
25. Sakkinen P, Abbott RD, Curb JD, Rodriguez BL, Yano K, Tracy RP. C-reactive protein and myocardial infarction. *J Clin Epidemiol*. 2002; 55: 445-451.
26. Burke AP, Tracy RP, Kolodgie F, Malcom GT, Zieske A, Kutys R, et al. Elevated C-reactive protein values and atherosclerosis in sudden coronary death: association with different pathologies. *Circulation*. 2002; 105: 219-223.
27. Albert CM, Ma J, Rifai N, Stampfer MJ, Ridker PM. Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. *Circulation*. 2002; 105: 2595-2599.

28. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moya LA, Goldman S, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *Circulation*. 1998; 98: 839-844.
29. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997; 336: 973-979.
30. Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, Siscovick DS, Mouton CP, Rifai N, et al. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease. Prospective analysis from the Women's Health Initiative Observational Study. *JAMA*. 2002; 288: 980-987.
31. Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, Gotto AM Jr; Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study Investigators. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med*. 2001; 344: 1959-1965.
32. Kaplan MH, Volanakis JE. Interaction of C-reactive protein complexes with the complement system. I. Consumption of human complement associated with the reaction of C-reactive protein with pneumococcal C-polysaccharide and with the choline phosphatides, lecithin and sphingomyelin. *J Immunol*. 1974; 112: 2135-2147.
33. Siegel J, Rent R, Gewurz H. Interactions of C-reactive protein with the complement system. I. Protamine-induced consumption of complement in acute phase sera. *J Exp Med*. 1974; 140: 631-647.
34. Bhakdi S, Torzewski M, Paprotka K, Schmitt S, Barsoom H, Suriyaphol P, Han S-R, Lackner KJ, Husmann M. Possible protective role for C-reactive protein in atherogenesis: complement activation by modified lipoproteins halts before detrimental terminal sequence. *Circulation*. 2004; 109: 1870-1876.
35. Lagrand WK, Niessen HWM, Wolbink G-J, Jaspars LH, Visser CA, Verheugt FWA, Meijer CJLM, Hack CE. C-reactive protein colocalizes with complement in human hearts during acute myocardial infarction. *Circulation*. 1997; 95: 97-103.
36. Pepys M. CRP or not CRP? That is the Question. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1091-1094.
37. Taylor KE, Giddings JC, van den Berg CW. C-reactive protein-induced in vitro endothelial cell activation is an artefact caused by azide and lipopolysaccharide. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25: 1225-1230.
38. Griselli M, Herbert J, Hutchinson WL, Taylor KM, Sohail M, Krausz T, Pepys MB. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *J Exp Med*. 1999; 190: 1733-1739.
39. Clapp BR, Hirschfield GM, Storry C, Gallimore JR, Stidwill RP, Singer M, Deanfield JE, MacAllister RJ, Pepys MB, Vallance P, Hingorani AD. Inflammation and endothelial function: direct vascular effects of human C-reactive protein on nitric oxide bioavailability. *Circulation*. 2005; 111: 1530-1536.
40. Hirschfield GM, Smith MD, Ley SV, Kolstoe S, Thompson D, Wood SP, Pepys MB. Therapeutic inhibition of C-reactive protein - novel drugs, novel mechanisms. *Clin Sci*. 2003; 104 (Suppl. 49): 65P-66P.
41. Paoletti R, Gotto AM, Hajjar DP. Inflammation in Atherosclerosis and Implications for Therapy *Circulation*. 2004; 109 [suppl III]: III-20-III-2.
42. Gomez-Gerique JA, Ros E, Olivan J, Mostaza JM, Vilardell M, Pinto X, et al; ATOMIX Investigators. Effect of atorvastatin and bezafibrate on plasma levels of C-reactive protein in combined (mixed) hyperlipidemia. *Atherosclerosis*. 2002; 162: 245-251.
43. Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, Harrison DG, Mehta JL. Established and Emerging Plasma Biomarkers in the Prediction of First Atherothrombotic Events. *Circulation* 2004; 109 [suppl IV]: IV-6-IV-19.
44. Wilhelmsen L, Svardsudd K, Korsan-Bengtson K, Larsson B, Welin L, Tibblin G. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1984; 311: 501-505.
45. Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB.. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA*. 1987; 258: 1183-1186.
46. Ma J, Hennekens CH, Ridker PM, Stampfer MJ. A prospective study of fibrinogen and risk of myocardial infarction in the Physicians' Health Study. *J Am Coll Cardiol*. 1999; 33: 1347-1352.
47. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA*. 1998; 279: 1477-1482.
48. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA*. 2001; 285: 2481-2485.
49. The BIP Study Group. Secondary prevention by raising HDL cholesterol and reducing triglycerides in patients with coronary artery disease: the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) study. *Circulation*. 2000; 102: 21-27.
50. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet*. 1998; 351: 88-92.

51. Ridker PM, Buring JE, Rifai N. Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation*. 2001; 103: 491-495.
52. Malik I, Danesh J, Whincup P, Bhatia V, Papacosta O, Walker M, et al. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet*. 2001; 358: 971-976.
53. Schonbeck U, Varo N, Libby P, Buring J, Ridker PM. Soluble CD40L and cardiovascular risk in women. *Circulation*. 2001; 104: 2266-2268.
54. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM, Simoons ML. CAPTURE Study Investigators. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2003; 348: 1104-1111.
55. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, McMahon AD, Ford I, Cooney J, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med*. 2000; 343: 1148-1155.
56. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G, et al. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2, High-Sensitivity C-Reactive Protein, and Risk for Incident Coronary Heart Disease in Middle-Aged Men and Women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation*. 2004; 109: 837-842.
57. Koenig W, Khuseynova N, Löwel H, Trischler G, Meisinger C. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Adds to Risk Prediction of Incident Coronary Events by C-Reactive Protein in Apparently Healthy Middle-Aged Men From the General Population: Results From the 14-Year Follow-Up of a Large Cohort From Southern Germany. *Circulation*. 2004; 110: 1903-1908.
58. Brilakis ES, McConnell JP, Lennon RJ, Elesber AA, Meyer JG, Perger PB. Association of lipoprotein-associated phospholipase A₂ levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up. *European Heart Journal*. 2005; 26: 137-144.
59. Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the Pravastatin Inflammation/CRP Evaluation (PRINCE). A randomized trial and cohort study. *JAMA*. 2001; 286: 64-70.
60. Dhonukshe-Rutten RA, de Vries JH, de Bree A, van der Put N, van Staveren WA, de Groot LC. Dietary intake and status of folate and vitamin B12 and their association with homocysteine and cardiovascular disease in European populations. *Eur J Clin Nutr*. 2007 Sep 12; [Epub ahead of print].
61. Wierzbicki AS. Homocysteine and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Diab Vasc Dis Res*. 2007;4(2):143-50
62. Yideng J, Jianzhong Z, Ying H, Juan S, Jing Z, Shenglan W, Xiaoqun H, Shuren W. Homocysteine-mediated expression of SAHH, DNMTs, MBD2, and DNA hypomethylation potential pathogenic mechanism in VSMCs. *DNA Cell Biol*. 2007 Aug; 26 (8): 603-11.
63. Wang J, Sim AS, Wang XL, Salonikas C, Moriatis M, Naidoo D, Wilcken DE. Relations between markers of renal function, coronary risk factors and the occurrence and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2007 Sep 7; [Epub ahead of print].
64. Maahs DM, Ogden LG, Kretowski A, Snell-Bergeon JK, Kinney GL, Berl T, Rewers M. Serum Cystatin C Predicts Progression of Subclinical Coronary Atherosclerosis in Persons with Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabetes*. 2007 Jul 27; [Epub ahead of print].
65. Ix JH, Shlipak MG, Chertow GM, Whooley MA. Association of cystatin C with mortality, cardiovascular events, and incident heart failure among persons with coronary heart disease: data from the Heart and Soul Study. *Circulation*. 2007; 115 (2): 173-9.
66. Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, Fried LF, Seliger SL, Newman AB, Siscovick DS, Stehman-Breen. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. *C. N Engl J Med*. 2005; 352(20):2049-60.
67. Mandayam S, Mitch WE. Is cystatin C more effective than creatinine in predicting adverse cardiovascular outcomes in elderly people? *Nat Clin Pract Nephrol*. 2005; 1 (1): 8-9.
68. Shlipak MG, Katz R, Sarnak MJ, Fried LF, Newman AB, Stehman-Breen C, Seliger SL, Kestenbaum B, Psaty B, Tracy RP, Siscovick DS. Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Ann Intern Med*. 2006;145(4):237-46.

The background features a stylized, light blue DNA double helix structure on the right side, spiraling upwards. To the left of the helix, there are several dark blue circles of varying sizes and thin, intersecting lines, creating a network-like pattern. The overall color palette is light blue and white, with dark blue accents for the text and graphics.

Capítulo 5

Buscando el componente genético
de las enfermedades complejas:
estudios de asociación

Capítulo 5

Buscando el componente genético de las enfermedades complejas: estudios de asociación

Angel Carracedo y Antonio Salas

Grupo de Medicina Genómica-Instituto de Medicina Legal.
Universidad de Santiago de Compostela

Resumen

Mientras la enfermedad genética mendeliana es infrecuente, la enfermedad compleja, esto es aquella que tiene un componente genético multigénico y un componente ambiental más o menos importante, es la principal causa de mortalidad y morbilidad.

El conocer el componente genético de estas enfermedades permitiría clasificarlas mejor, tratarlas mejor e incluso encontrar nuevas dianas terapéuticas para futuros tratamientos. Sin embargo, el progreso en el conocimiento del componente genético de estas enfermedades está siendo muy lento por las dificultades inherentes a este tipo de enfermedades tales como la heterogeneidad genética, las fenocopias, la variabilidad fenotípica y las interacciones gen-gen y gen-ambiente.

Las posibilidades de éxito de encontrar estos genes ha mejorado enormemente gracias a la introducción de nuevos recursos genómicos y proteómicos. Entre ellos los estudios de asociación han demostrado ser una excelente herramienta para analizar la correlación entre variantes genéticas y diferencias fenotípicas a escala poblacional.

Los estudios de asociación han cambiado dramáticamente desde la introducción de los SNPs y el descubrimiento de millones de SNPs en el genoma humano y sobre todo desde el conocimiento de bloques haplotípicos del genoma y el desarrollo del proyecto HapMap. Al mismo tiempo se han desarrollado tecnologías de alto rendimiento que permiten el análisis masivo de SNPs y en muchos países existen facilidades a nivel nacional que permiten a los investigadores el acceso a estudios masivos de asociación. Este es el caso de Centro Nacional de Genotipado en nuestro país (CeGen) que cuenta con recursos tecnológicos e informáticos para llevar a cabo estos proyectos.

La búsqueda de genes en trectos complejos: SNPs y el proyecto HapMap

Para entender mejor la relación nutrición-enfermedad es importante entender que la predisposición genética juega un papel importante en la misma y que estamos hablando de una genética de trectos complejos donde muchos genes interaccionan entre sí y con el ambiente.

La nutriogenómica es el estudio de las interacciones bidireccionales entre genes y dieta, conjuntamente con otras nuevas ciencias como la metabolómica, cambiarán sin duda la investigación y la práctica en nutrición (1).

Hasta hace muy poco tiempo existían herramientas genéticas eficaces para conocer el componente genético de las enfermedades y rasgos mendelianos, particularmente para los monogénicos, pero era prácticamente imposible conocer los tractos multigénicos influidos de una manera más o menos importante por el ambiente.

Así, el uso de estudios de ligamiento con marcadores muy informativos como los microsatélites, era relativamente eficaz cuando se trataba de rasgos mendelianos sencillos, pero era muy ineficaz para encontrar los genes involucrados en rasgos complejos.

La utilización masiva de polimorfismos nucleotídicos simples a través de estudios de asociación, y el desarrollo del proyecto HapMap (2) (<http://www.hapmap.org/>), posibilitaron un cambio de escenario.

Los SNPs (*"single nucleotide polymorphisms"*) son polimorfismos bialélicos, esto es que en una posición determinada del genoma una persona tiene una base, por ejemplo A y otra tiene una T.

Desde entonces se fue acumulando información creciente sobre este tipo de polimorfismos y la información derivada del Proyecto Genoma Humano demostró que el número de SNPs era muy abundante y que podía superar los 11 M en el Genoma Humano, lo que podía tener un interés extraordinario para localizar a los genes involucrados en enfermedades complejas, porque su densidad era pues enorme con un SNP cada aproximadamente 200-300 bases de media.

Los SNPs actuarían como marcadores para localizar genes involucrados en enfermedades o interacciones complejas como la nutrición y la enfermedad. La idea sería realizar estudios de asociación con un grupo de enfermos y un grupo control de modo que se puedan encontrar SNPs (y en consecuencia genes) asociados a una enfermedad. Por ejemplo, se trataría de recoger ADN de un grupo de personas que sufren hipertensión arterial u otra enfermedad o interacción compleja y un grupo de personas que no la sufren. Si un SNP particular es más frecuente en la gente con hipertensión podría ser utilizado para localizar e identificar un gen implicado en la hipertensión. Lo mismo podría aplicarse exactamente a cualquier estudio de asociación en nutriogenómica.

Pero incluso con el enorme progreso tecnológico realizado en los últimos años, el análisis de un número tan enorme de SNPs (10M) en un grupo de individuos (pongamos 2.000) supondrían 20.000 M genotipos para analizar el genoma completo, esto es un esfuerzo casi imposible. Habría que circunscribirse pues a genes concretos y esto, al contrario que realizando análisis genómicos globales, supondría tener que analizar hipótesis etiopatogénicas ya conocidas con un sesgo hacia genes concretos lo que dificultaría enormemente el encontrar los genes involucrados en tractos complejos.

La evidencia de que el Genoma Humano está constituido por bloques haplotípicos con apenas recombinación dentro de cada bloque abrió una nueva etapa de ilusión. Ahora sabemos pues que hay segmentos de cromosomas ancestrales que no se han roto por recombinación y que están separados por segmentos donde la recombinación es frecuente. Estos segmentos son los haplotipos.

Esto quiere decir que en un bloque donde hay por ejemplo 30 ó 40 SNPs todos polimórficos por definición, en realidad sólo hay unas pocas variaciones haplotípicas.

Así, en una población dada, el 55% de las personas podrían tener una versión del haplotipo, el 30% otra, el 8% una tercera y el resto unos pocos haplotipos menos comunes.

Si conociésemos la estructura de estos bloques e identificásemos los Tag SNPs, que definen la variación en cada bloque, podríamos reducir muy significativamente el número de SNPs necesarios para un estudio de asociación. Se calcula que hay aproximadamente de 300.000 a 600.000 Tag SNPs que es considerablemente menos que 11 millones y que posibilita hacer estudios de asociación con una eficacia mucho mayor e incluso análisis de asociación con barridos genómicos globales posible y asequible no sólo para compañías farmacéuticas sino para consorcios científicos organizados.

Y ésta fue la finalidad del proyecto internacional HapMap (2) que consiste no sólo en un catálogo de las variantes genéticas comunes simples que ocurren en el genoma humano y como están distribuidas esas variantes en las distintas poblaciones humanas, sino además en el dibujo de los bloques haplotípicos en las principales poblaciones y en la identificación de los Tag SNP que definen la variación en cada bloque. La finalidad última es encontrar gracias a este esfuerzo genes involucrados en enfermedades complejas y entender mejor la respuesta individual a los fármacos (farmacogenética).

Como ocurrió con el Proyecto Genoma Humano el proyecto HapMap es una colaboración de científicos y agencias de varios países. En este caso cooperan Estados Unidos, Japón, Reino Unido, Canadá, China y Nigeria. Oficialmente el proyecto comenzó en octubre de 2002 y la primera fase terminó tres años más tarde (*Nature*) (<http://genome.gov/10005336>) (2). Desde entonces disponemos de información de los bloques de desequilibrio de ligamiento en las principales poblaciones humanas y herramientas bioinformáticas (ejemplo: Haploview) para seleccionar Tag SNPs en los bloques haplotípicos.

El siguiente gran desarrollo ha sido el tecnológico y la bioinformática.

Existen plataformas de genotipado de varias características que nos permiten analizar desde unos pocos SNPs a muchos miles de SNPs en un número grande de muestras de forma económica y rápida y, en algunos países europeos existen grandes centros de genotipado para ayudar a los investigadores a realizar proyectos de asociación.

En España el Centro Nacional de Genotipado (CeGen) (www.cegen-org) es un centro en tres nodos creado por Genoma España con esta finalidad. El centro dispone de personal muy especializado que puede ayudar a grupos o consorcios de investigación en todas las fases de un estudio de asociación, desde el diseño y selección de SNPs, extracción de ADN, análisis matemáticos y sobre todo análisis de SNPs.

Cada nodo posee varias plataformas de genotipado que en conjunto permiten el abordaje económico y efectivo de cualquier proyecto de asociación, desde los más sencillos (unos pocos SNPs) a análisis genómicos globales (GWA, genome wide análisis). Para los primeros se usan plataformas basadas en espectrometría de masas (MALDITOF MS) y para los segundos plataformas como Illumina o Affymetrix. Esta última permite con el chip Affy 6.0 el análisis de alrededor de un millón de SNPs y un millón de sondas adicionales para el análisis de variación de número de copias (CNVs).

El trabajo de análisis es enorme e implica no sólo el diseño de los multiplexes y los análisis sino también el control de calidad que muchas veces hay que hacer genotipo por genotipo.

El centro también ha diseñado herramientas bioinformáticas, no sólo para el manejo de una información a veces enorme, sino para permitir a los investigadores analizar ellos mismos los resultados de sus estudios de asociación.

Diseño de un estudio de asociación: Estrategias, selección de SNPs y número necesario de muestras

El diseño de un estudio de asociación debe de ser muy cuidadoso desde el principio. Los investigadores deben decidir si van a hacer un estudio con genes candidatos o con análisis genómicos globales (GWAs). En el primer caso se tiene la ventaja de una mayor precisión y un menor coste. En el segundo el cubrir el genoma por completo y el poder ser más neutras sin insistir en ideas etiopatogénicas definidas y probablemente ya exploradas.

Si se deciden elegir SNPs en genes candidatos hay que seleccionar los genes primero de las rutas bioquímicas (pathways) que pueden estar provocando el efecto fenotípico (enfermedad o rasgo) que buscamos. Para seleccionar SNPs en esos genes también se puede recurrir a varias estrategias y para ello es corriente en una primera aproximación buscar SNPs potencialmente funcionales. Para esto se han desarrollado herramientas informáticas ad hoc como el programa Pupa SNPs (www.cegen.org).

Para análisis genómicos globales también hay varias estrategias posibles con ventajas e inconvenientes por lo que es necesario el consejo de expertos.

Un aspecto fundamental del estudio de asociación es la definición del fenotipo, esto es del rasgo o característica compleja cuyo componente genético queremos analizar. Esto puede ser fácil (por ejemplo un rasgo físico medible como el peso) o muy difícil que es lo habitual (por ejemplo una enfermedad psiquiátrica). Siempre, además, hay que contar con una población control (sin poseer el rasgo, enfermedad o efecto fenotípico) de un tamaño similar que muchas veces tampoco es fácil conseguir.

En general para un estudio de asociación donde estamos buscando genes que interactúan entre sí y con el ambiente, se necesita un elevado número de muestras, pero ¿cuántas?

Uno de los pasos fundamentales en el diseño y planificación de un estudio de asociación es el cálculo de las muestras que serían necesarias para detectar un determinado efecto genotípico sobre una enfermedad concreta. Este cálculo es además importante si tenemos en cuenta el coste que generalmente conlleva el diseño de un estudio (en fenotipado y genotipado). El poder de un estudio se puede definir como la probabilidad de detectar con éxito un efecto de un tamaño determinado: si β es la probabilidad de un falso-negativo (error tipo II), el poder se define como $1-\beta$. El poder depende de diversos factores: la magnitud del efecto, el tamaño muestral (N), el nivel de significancia estadístico requerido, α (falso positivo, error tipo I, tasa de error), etc. A pesar de que el investigador determina N y α , muchos de los factores que contribuyen a la magnitud del efecto son generalmente desconocidos. Por lo tanto, para calcular el poder de un estudio, necesitamos hacer asunciones relacionadas con lo que esperamos encontrar. Así por ejemplo, para el 'mapeo' de loci, uno tendría que incluir la proporción de la variante explicada por los locus, la acción del gen, la heterocigosidad del marcador y la densidad (3, 4).

Es posible que muchas asociaciones sean reales, pero no reproducibles debido a que el efecto de la variable de riesgo es muy débil. Si los estudios en donde se replica la asociación no presentan un poder adecuado para detectar un efecto débil, lo más probable es que el resultado de la asociación no sea estadísticamente significativo en la replicación. Esta dificultad es generalmente potenciada por el llamado efecto "jackpot": el primer grupo de investigación que reporta una asociación débil, es más probable que haya sobre-estimado (y no lo contrario) el efecto real del polimorfismo.

Este fenómeno ocurre realmente porque todos los estudios generalmente reportan estimas muy imprecisas del efecto de la variante debido fundamentalmente a variaciones de muestreo. Este efecto nos conduce a un razonamiento obvio: cualquier estudio de replicación debería idealmente incluir un número de pacientes mucho más grande para conseguir detectar de manera estadísticamente significativa el efecto de la variante de riesgo. La no detección de un efecto de magnitud determinado en el primer estudio de asociación no debería considerarse suficiente como para rechazar la asociación de una variante.

Errores de tipo 1 en estudios de asociación

El mayor problema de un estudio de asociación son los errores de tipo I (falsos positivos) y por eso hay que diseñarlos bien y analizarlos de forma adecuada. Hay varias posibles causas de falsos positivos y herramientas estadísticas apropiadas para minimizarlos. Las pasamos a describir.

Estratificación poblacional

Una gran parte de los estudios de asociación se basan en un diseño caso-control en donde las frecuencias de los alelos se comparan entre el grupo de pacientes (casos) y una población de individuos no afectados (controles).

Estos estudios están generalmente expuestos a problemas de estratificación poblacional, un caso particular de “*confounding by ethnicity*” y que representa seguramente la causa más importante de errores tipo I en los estudios de asociación. El problema de la estratificación surge cuando el componente genético-poblacional de los casos y de los controles difiere significativamente; es decir, casos y controles son reclutados de grupos poblacionales diferentes (generalmente) de manera inconsciente.

Dicho con otras palabras, se trata de un problema de falta de “apareamiento muestral-poblacional/étnico” (*sample matching*) entre los casos y los controles. La condición *sine qua non* para que la estructuración tenga efecto sobre el estudio de asociación es que los grupos poblacionales (que subyacen a la población estratificada) presenten frecuencias alélicas diferentes. Si uno de los grupos poblacionales está más representado en los casos que en los controles (o viceversa), cualquier polimorfismo (neutral) que presente frecuencias alélicas diferentes (estadísticamente significativas) entre las dos poblaciones será erróneamente observado como alelo de riesgo (o de protección) en el estudio de asociación (falso positivo). Otro factor coadyuvante es la existencia de diferencias en las prevalencias de la enfermedad en los dos grupos poblacionales: una de las poblaciones, la de mayor prevalencia, tenderá a estar sobre-representada en los casos, pero no en los controles.

Corrección para comparaciones múltiples

Conforme uno lleva a cabo más test de hipótesis, existe una probabilidad creciente de que uno o más test aparezcan como significativos simplemente por azar. Los valores de significancia detectados en los estudios de asociación raramente se corrigen para el número de contrastes de hipótesis (test) reportadas (generalmente muchos menos que el número de test ejecutados). El valor de la significancia nominal debería de hecho ser calculada de acuerdo al número de hipótesis ejecutadas. El nivel de significancia convencional es $P < 0.05$ (5). En la década de los 90, el método de ajuste de Bonferroni empezó a utilizarse en estadística médica de forma indiscriminada y desde aquel momento se ha venido utilizando frecuentemente en los estudios de asociación. No obstante, este método de corrección presenta graves deficiencias en el sentido de que es extremadamente conservador y por lo tanto, generalmente, innecesario.

A menudo los investigadores no corrigen sus resultados para test múltiple, y éste es uno de los factores importantes que genera falsos positivos. El problema de los test múltiples es aun mucho más acusado cuando se aplica a estudios de interacción génica, en donde se generan un número muy elevado de hipótesis.

Por lo tanto, una corrección inadecuada para test múltiple puede derivar en dos resultados igualmente indeseables: incremento del nivel de falsos positivos o error tipo I (debido a una corrección débil o pobre), o un decremento estadístico del poder de detección de los efectos de las variables sobre el fenotipo (debido a una corrección demasiado severa) o error tipo II.

Otro método muy usado es el False discovery rate (FDR). En este caso en vez de controlar para la probabilidad de cualquier falso positivo (tal y como hace Bonferroni o e.j. random field methods), el FDR de Benjamini and Hochberg (6) controla la proporción de falsos positivos ("false discoveries") con respecto al total de positivos, en donde positivo significa el valor de P que está por debajo de un cierto valor.

Una de las mejores soluciones al problema de la corrección por test múltiple es el uso de test basados en procedimientos computacionales. El método de permutación es probablemente el más utilizado hoy en día en los estudios de asociación: permite la obtención de una distribución empírica del estadístico y una medida de significancia corregida para el sesgo por test múltiple (7). Este método es similar al ajuste de los valores de P mediante bootstrapping, con la excepción de que el procedimiento de remuestreo en la permutación se lleva a cabo sin reemplazamiento en vez de con reemplazamiento.

Hay otros métodos como descomposición espectral que es un método sencillo aplicable a SNPs en desequilibrio de ligamiento (LD) (8) y que puede ser implementado usando SNPSpD o "sum statistics" que combina la información de marcadores múltiples potencialmente asociados con la enfermedad.

Errores de genotipado: consecuencias en los estudios de asociación

Los estudios de asociación generalmente conllevan el genotipado de un gran número de SNPs en una cantidad sustancial de muestras. Existe sin duda un lugar amplio para los artefactos de laboratorio. Generalmente estos problemas son menos propensos a falsos positivos en los estudios caso-control, ya que los errores de genotipado deberían afectar de la misma manera a las muestras de casos y de controles. Esto no tiene por qué ser sistemáticamente así; podemos imaginar una situación en donde los casos y los controles son genotipados en distintos laboratorios, o en el mismo laboratorio, pero en momentos diferentes (y por lo tanto en distintas placas de genotipado), o usando técnicas diferentes. Los errores de genotipado han ido cobrando en estos últimos años mayor peso en los estudios de asociación, una vez se ha comprobado que estos errores pueden tener consecuencias graves en el análisis e interpretación de los resultados.

Otras consideraciones

Problemas en la determinación del fenotipo en la enfermedad compleja

En ocasiones una patología no está definida con la especificidad suficiente, y en la práctica engloba una serie de patologías relacionadas.

La existencia de fenocopias, es decir, la observación de fenotipos que no tienen una base genética sino fundamentalmente ambiental, pueden conducir a errores tipo II. El *phenocopy rate* se define como la proporción de fenotipos idénticos debidos a factores no genéticos y puede variar significativamente entre grupos poblacionales. Un ejemplo típico son aquellos medicamentos que inducen un determinado fenotipo que también puede tener causas puramente genéticas.

Así, aquellos individuos que toman el fármaco meperidien a menudo están expuestos a un producto secundario conocido como MPTP (*1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine*) que causa la destrucción de las neuronas dopaminérgicas y produce el fenotipo de Parkinson (9). Daños cerebrales traumáticos pueden derivar en ataques epilépticos postraumáticos y que pueden ocurrir tanto durante las 24 primeras horas del trauma como en los años siguientes al daño.

Los problemas de clasificación del fenotipo conducen a una pérdida del poder de detección. Es común ver que un porcentaje significativo de los pacientes usados como controles presentan alguna patología relacionada, y en ocasiones son casos mal diagnosticados.

Interacción gen-gen y gen-ambiente

Otra fuente potencial de variabilidad y ausencia de replicación en los estudios de asociación es la epistasis. Cordell (10) identifica varias razones por las cuales la identificación de las interacciones puede llegar a ser un proceso complejo o incluso imposible.

En la mayor parte de los estudios que pretende detectar epistasis, los tamaños muestrales son sub-óptimos, de tal manera que no permiten estudiar el número masivo de hipótesis que normalmente se pueden llegar a formular, incluso considerando interacciones de dos dimensiones.

Estos problemas pueden también estar mediados por diferencias entre poblaciones. Por ejemplo, se puede dar la situación de que el efecto de una variante de riesgo sólo se manifieste en poblaciones con un componente genético poblacional (*'background'*) determinado, o bajo determinadas condiciones ambientales.

Conclusiones finales

Los estudios de asociación con SNPs son hoy día muy eficaces para determinar el componente genético de trastos complejos y para nutrigenómica.

La accesibilidad de bases de datos de SNPs, el desarrollo del Proyecto HapMap y el disponer de herramientas y plataformas de genotipado muy eficaces hace que hoy un experimento de asociación bien diseñado tenga muchas posibilidades de éxito.

Un diseño adecuado es esencial y hay que prever siempre la posibilidad de replicar los hallazgos en una cohorte de mayor tamaño. Existen muchas fuentes de artefactos estadísticos en los estudios de asociación. Un criterio razonable para declarar la existencia de una asociación potencial entre una variante genética y una enfermedad sería incluir solamente aquellos valores de significancia nominal bajos (corregidos por test múltiples), replicación de la asociación en varias muestras y evitar la estratificación poblacional en tiempo de muestreo y corregirla usando los métodos de control apropiados.

Bibliografía

1. Zeisel SH. (2007). Nutriogenomics and metabolomics will change clinical nutrition and public health practice: insights from studies on dietary requirements for choline. *Am J Clin Nutr* 86: 542-548.
2. International Hap Map Consortium. (2007). A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 449: 851-861.
3. Suárez B, O'Rourke D, Van Eerdewegh P. (1982). Power of the affected-sib-pair method to detect disease susceptibility loci of small effect: an application to multiple sclerosis. *Am J Med Genet* 12: 309-326.
4. Cardon LR, Fulker DW. (1994). The power of interval mapping of quantitative trait loci, using selected sib pairs. *Am J Hum Genet* 55: 825-833.
5. Tukey JW. (1977). Some thoughts on clinical trials, especially problems of multiplicity. *Science* 198: 679-684.
6. Benjamini Y, Hochberg Y. (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc B* 57: 289-300.

7. Doerge RW, Churchill GA. (1996). Permutation tests for multiple loci affecting a quantitative character. *Genetics* 142: 285-294.
8. Nyholt DR. (2004). A simple correction for multiple testing for single-nucleotide polymorphisms in linkage disequilibrium with each other. *Am J Hum Genet* 74: 765-769.
9. Langston JW, Langston EB, Irwin I. (1984). MPTP-induced parkinsonism in human and non-human primates--clinical and experimental aspects. *Acta Neurol Scand Suppl* 100: 49-54.
10. Cordell HJ. (2002). Epistasis: what it means, what it doesn't mean, and statistical methods to detect it in humans. *Hum Mol Genet* 11: 2463-2468.

The background of the slide is a light blue and white abstract design. It features a prominent DNA double helix structure on the right side, with several dark blue circles scattered across the left and center. Thin, intersecting lines create a geometric pattern in the upper left quadrant.

Capítulo 6

De las ingestas recomendadas
a la nutrición personalizada

Capítulo 6

De las ingestas recomendadas a la nutrición personalizada

Rosa María Ortega Anta

Departamento de Nutrición.

Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, Madrid (España)

Resumen

En este momento no deberíamos conformarnos con buscar una ingesta aceptable o razonable (entre el mínimo que lleva a una carencia y el máximo que implica un riesgo de toxicidad), nos encontramos en situación de buscar aportes óptimos, para mantener la salud, presente y futura, y para promocionar al máximo el rendimiento, bienestar y calidad de vida. Es cierto que la información genética, puede darnos datos valiosos para modificar las ingestas recomendadas (IR), con carácter individual, para que sean las más adecuadas a un individuo. Sin embargo, hay aspectos del estilo de vida que también deben ser considerados, concretamente el consumo de tabaco, la actividad física, el contenido en grasa corporal... que modifican las IR y seguirán marcando diferencias en personas con una misma información genética. El realizar una valoración dietética, antropométrica y bioquímica del estado nutricional, puede darnos información valiosa para modificar la ingesta de distintos nutrientes hasta conseguir que la situación bioquímica y funcional sea la óptima para cada individuo. Hay herramientas a nuestro alcance a las que no se les está dando la debida importancia. Es deseable que estos aspectos y datos sean objeto de mayor atención en el futuro.

Introducción

Una nutrición correcta es vital en el mantenimiento y recuperación de la salud y en la consecución de una adecuada capacidad funcional y calidad de vida de la población. Pero para poder mejorar es necesario tener herramientas que permitan juzgar las dietas de diversos individuos; hacen falta referencias como las ingestas recomendadas y también es necesario cuestionar sus limitaciones, buscando una aproximación a las necesidades concretas de cada individuo (1).

Concepto de IR y evolución: de aportes mínimos a óptimos

En un principio el interés prioritario era la prevención de las enfermedades carenciales, recomendando que la dieta aportara unas cantidades mínimas de nutrientes, pero con el paso del tiempo, debido al aumento de la mortalidad por enfermedades degenerativas muy relacionadas con la alimentación, las recomendaciones se han modificado, siendo ahora su objetivo fundamental el ayudar a prevenir estas enfermedades crónicas y/o degenerativas, o incluso, otras patologías cuya aparición, también parece estar, al menos en parte, condicionada por la dieta (1, 2).

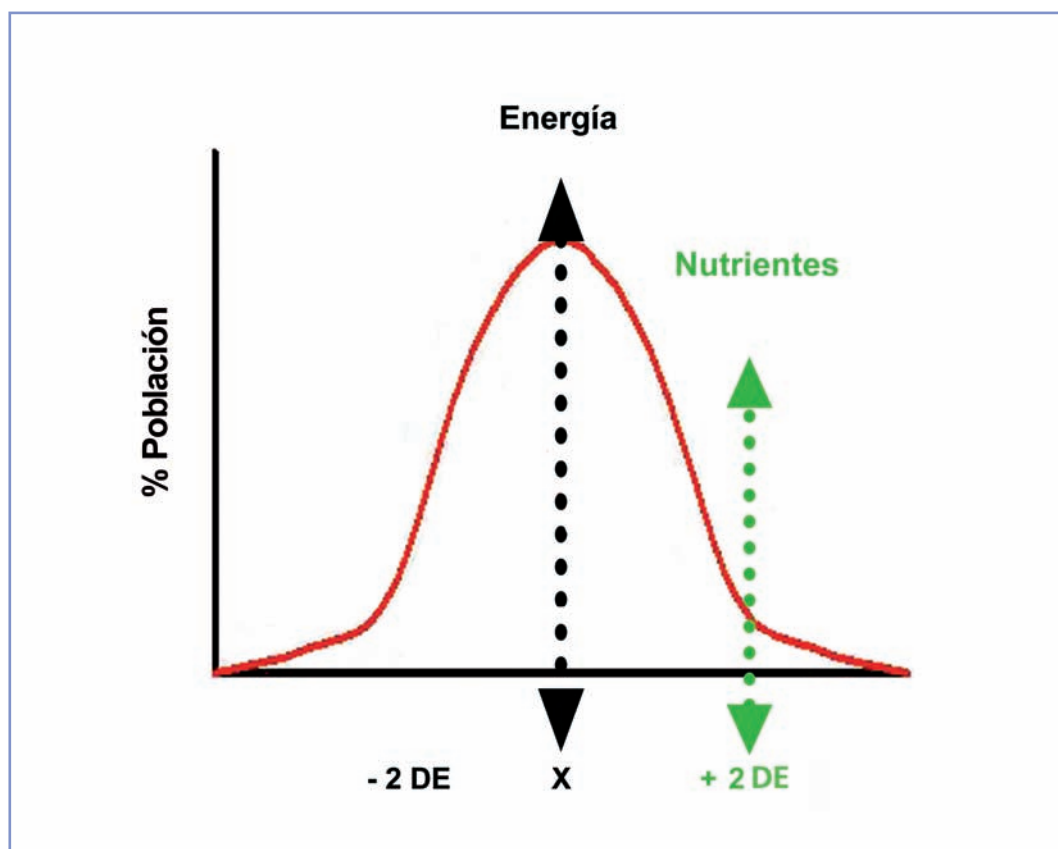
Para establecer las ingestas recomendadas, aplicables a una población, es necesario partir del concepto de **requerimiento nutricional**, que es la cantidad de un nutriente que cada persona necesita ingerir para impedir la aparición de una deficiencia en relación con este nutriente. Los requerimientos son absolutamente específicos de cada individuo, y de hecho, son distintos incluso en personas cuyas características de edad, sexo y estado fisiológico (gestación y lactancia) son muy parecidas (1, 2).

Para poder extender la definición de requerimiento a un colectivo es necesario salvar la variabilidad individual, lo que se consigue mediante la utilización de las **ingestas recomendadas**,

que proponen unas cantidades medias de nutrientes, que representan “las que debe ingerir un colectivo que presenta unas características fisiológicas similares”, aunque esta cantidad cubra con mayor exactitud los requerimientos de algunas personas, que los de otras (aquellas con requerimientos más pequeños, o muy elevados). Las ingestas recomendadas de nutrientes deben superar, por definición, los requerimientos de la mayoría de los individuos del grupo para el que se establecen (1-3).

En general, se asume que los requerimientos de un nutriente para un grupo de individuos siguen una distribución normal, según la curva de Gauss.

FIGURA 1 | Cómo fijar las ingestas recomendadas a partir de los requerimientos de una población.



En este modelo, la mayor parte de los individuos tienen un requerimiento medio (\bar{X}), y sólo un pequeño porcentaje presenta requerimientos extremos, incluyéndose entre esos extremos todas las situaciones intermedias (Figura 1)(1, 2).

Para cubrir la variabilidad individual y abarcar así los requerimientos de la mayoría de los individuos del grupo, se añade al requerimiento medio (\bar{X}) una cantidad equivalente a dos veces la desviación estándar (DS). Con este margen de seguridad, se asegura que el 97,5% de la población tendrá cubiertos sus requerimientos, mientras que sólo el 2,5% restante estaría en riesgo de déficit. No obstante, no conviene incrementar aún más esta cantidad, por el posible inconveniente de aconsejar cantidades excesivas para algunos individuos con los requerimientos más bajos (Figura 1) (1, 2).

Este planteamiento es válido para todos los nutrientes, pero no para la energía, a la que se asigna la cifra correspondiente al requerimiento medio del grupo (Figura 1). Si se siguiera la misma pauta que con el resto de los nutrientes, es decir, si se incrementara el requerimiento medio en una cantidad que cubriera la variación existente entre individuos (dos veces la DS), se estaría induciendo a la obesidad a la mayoría de la población (1, 2).

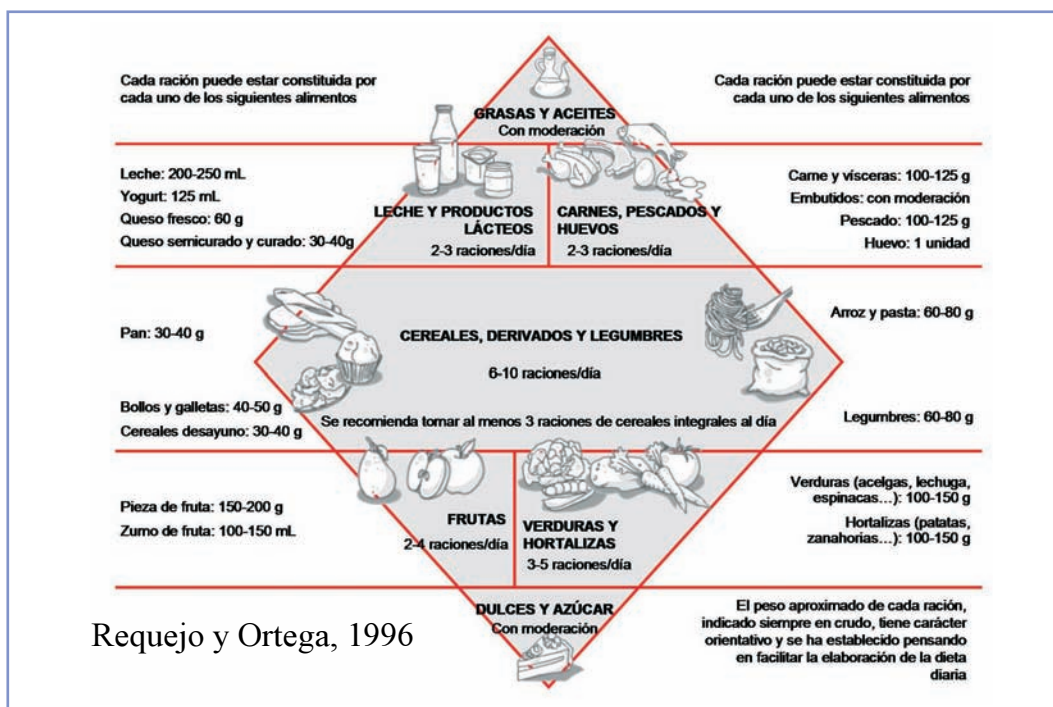
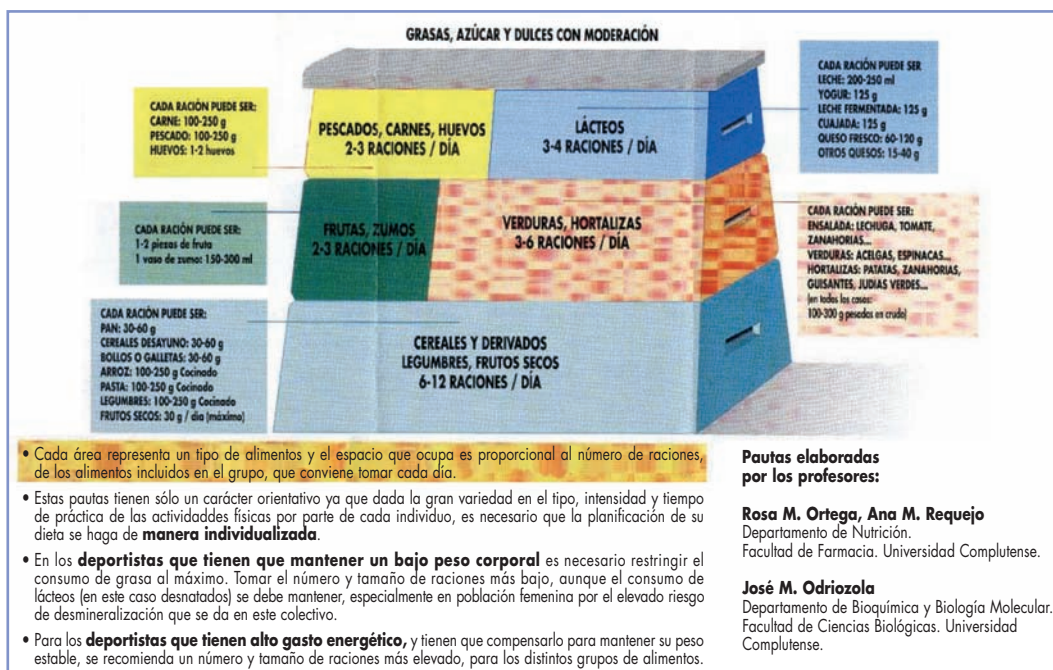
Para el resto de los nutrientes las ingestas recomendadas tienden a la generosidad, ya que existen pocas pruebas de que los pequeños excesos de nutrientes sean perjudiciales, mientras que los déficit constantes y no compensados, aunque sean ligeros, pueden producir deterioros sanitarios a largo plazo. Se establecen teniendo en cuenta los conocimientos científicos actuales y permiten cubrir los requerimientos fisiológicos de prácticamente la totalidad de las personas sanas en un grupo de características dadas. No son cantidades estáticas, ya que a medida que se hacen nuevas investigaciones se pueden ir modificando, adaptándolas a los nuevos conocimientos y a las interpretaciones científicas más recientes (1-3).

Limitaciones de IR ¿qué personas no cubren sus necesidades?

Cuando se emplean las ingestas recomendadas, es necesario recordar el carácter general y la generosidad con la que se marcan (para cubrir, por exceso los requerimientos del 97,5% de los individuos). Por ello, si se aplican a nivel individual, no podemos asegurar que una ingesta inferior a la recomendada para un determinado nutriente, implique necesariamente la aparición de un déficit, ya que la probabilidad de que una persona concreta necesite las cantidades recomendadas es bastante baja. Algunos autores han intentado definir otros puntos de corte para la adecuación de la ingesta, viendo por ejemplo el número de individuos que no alcanzan a cubrir el 67% (2/3) de las ingestas recomendadas, pero lo único que puede asegurarse es que la probabilidad de deficiencia aumenta en proporción directa al descenso de la ingesta por debajo de lo recomendado (1, 2).

Pautas para cubrir las IR dirigidas a colectivos

No se puede transmitir a la población la necesidad de tomar 15 mg/día de hierro, o 400 µg/día de ácido fólico (4), las ingestas recomendadas y los objetivos nutricionales sirven de base para el diseño de Guías de Alimentación que sí son útiles para difundir y son pautas sobre el consumo de alimentos que permiten cubrir estas recomendaciones y tener por tanto una alimentación correcta (5). Como base de diversas campañas de educación nutricional se han empleado guías como el "*Rombo de la Alimentación*" distribuido por el Ministerio de Sanidad y Consumo desde 1996 (Figura 2, página 118), y "*Pautas en la alimentación de personas físicamente activas*" (2000) (Figura 3, página 118), entre otras (5-7).

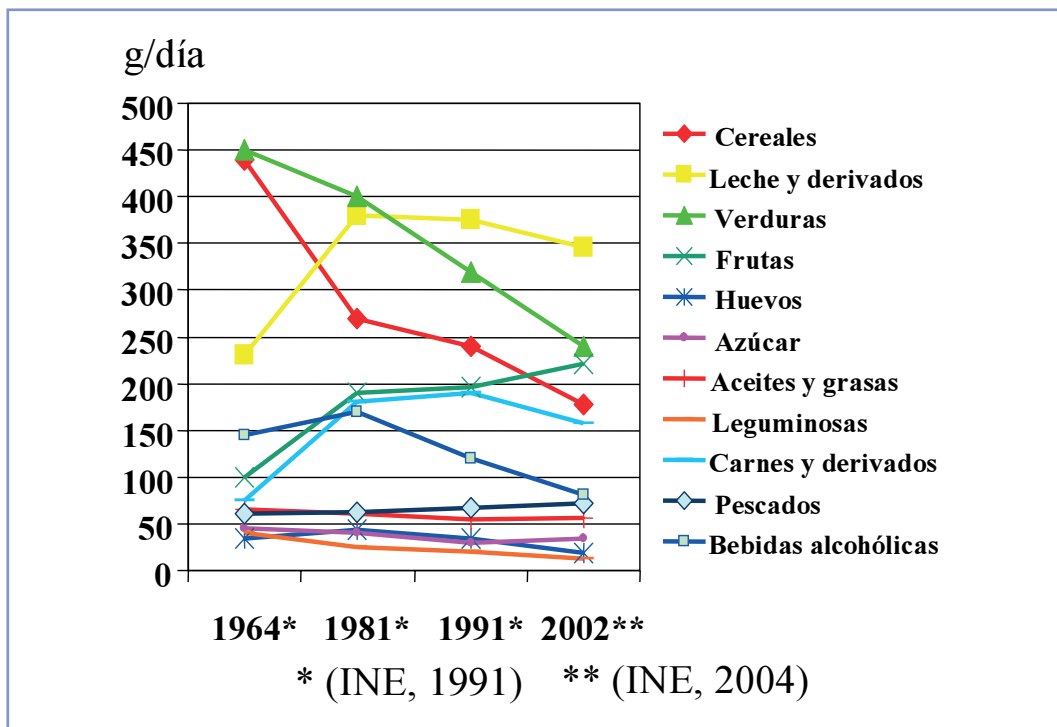
FIGURA 2 | El Rombo de la Alimentación. Guía para el diseño de dietas equilibradas**FIGURA 3 | Guía en la planificación de dietas para personas físicamente activas.**

Aunque algunas de estas guías parecen difíciles de alcanzar, especialmente en relación con el consumo propuesto para cereales y verduras, es necesario considerar que sin una dieta de estas características las ingestas recomendadas y objetivos nutricionales, marcados como convenientes, no pueden ser alcanzados. Por otra parte, si consideramos como ha evolucionado el consumo de alimentos en los últimos años (8,9) (Figura 4) vemos como ha ido disminuyendo el consumo de cereales y verduras, este cambio puede hacernos pensar que lo correcto es lo habitual en el momento presente, y no el consumo (más del doble del actual) observado hace unos 40 años, cuando se definió el concepto de dieta mediterránea, como modelo de dieta saludable (10).

Las consideraciones previas ponen de relieve que, aunque las ingestas recomendadas pueden ser perfeccionadas, pensando en

individuos concretos, en este momento estamos muy lejos de tener el consumo de alimentos aconsejado, como consecuencia hay desequilibrios en el perfil calórico y lipídico de la dieta y la ingesta de fibra, vitaminas y minerales es, en muchos casos inferior a la aconsejada (11, 12). La situación está lejos de ser la adecuada y además existe un desconocimiento no percibido en la población en relación con estos temas (13, 14), lo que hace que la mayor parte de los individuos sean refractarios al mensaje que intenta transmitir las características de una alimentación correcta. Aunque es necesario seguir avanzando y perfeccionar la posibilidad de marcar ingestas de referencia en función de las peculiaridades genéticas de un individuo, hay pasos previos que podrían ser considerados como muy elementales, en los que es necesario hacer avances importantes.

FIGURA 4 | Evolución en el consumo de alimentos.



¿Cómo podemos juzgar si la ingesta de un individuo es realmente la adecuada a sus necesidades?

Dadas las limitaciones de las IR no basta saber que un individuo tiene un aporte similar o superior al marcado como conveniente, para poder garantizar que su situación nutricional es la óptima. Los parámetros bioquímicos nos ofrecen un dato adicional para saber si las cifras de diversos indicadores de ingesta son las adecuadas y si las funciones y procesos, que dependen de un nutriente, se realizan de manera satisfactoria (15).

Las cifras séricas, o urinarias, de un determinado nutriente pueden ser un reflejo de su ingesta, pero también un aumento en las concentraciones de sus metabolitos, coenzimas que se construyen a partir del nutriente (por ej., cifras de flavin adenin dinucleotido-FAD, obtenido a partir de la riboflavina), actividad enzimática mediada por el nutriente (como la medida de la actividad de la eritrocito transcetolasa, cuya actividad depende de la tiamina pirofosfato-TPP, construida a partir de tiamina)... son indicios importantes de la situación nutricional (15).

Una valoración bioquímica permite hacer un juicio del estatus nutricional de un individuo y decidir si con una determinada ingesta consigue un buen funcionamiento y una adecuada capacidad, o si por el contrario con ese aporte no se alcanza la saturación tisular o el mejor funcionamiento bioquímico posible. Estos datos, junto con otros asociados a estudios de intervención en los que se puede ver la modificación bioquímica ante un aporte nutricional concreto, sirven de base en la personalización de las ingestas recomendadas a cada individuo en concreto (15).

Pero también la valoración bioquímica del estado nutricional es poco habitual y no se realiza en la práctica, salvo cuando hay un problema clínico que obliga a buscar un diagnóstico concreto de deficiencia,

como podría ser el diagnóstico de anemia y su relación posterior con el padecimiento de una deficiencia en hierro, ácido fólico o vitamina B₁₂, por ejemplo. Salvo en estos casos las deficiencias ligeras pasan totalmente desapercibidas. En el futuro, además de aumentar el conocimiento de las guías alimentarias entre la población, la valoración dietética y bioquímica del estado nutricional sería deseable que fuera convertida en una rutina, encaminada a mejorar la situación nutricional de diversos individuos y colectivos.

Aspectos que modifican las IR

Aunque lo ideal es hacer una valoración del estado nutricional, teniendo en cuenta datos dietéticos, antropométricos y bioquímicos para hacer los ajustes necesarios y establecer unas ingestas recomendadas adaptadas a cada individuo en concreto, algunos estudios ponen de relieve aspectos que modifican las ingestas recomendadas de diversos colectivos y que pueden servirnos de orientación previa. Concretamente el consumo de tabaco, la actividad física, el contenido en grasa corporal... son aspectos que modifican las IR y seguirán marcando diferencias en personas con una misma información genética

Consumo de tabaco

Respecto a la repercusión negativa que el consumo de tabaco ejerce en la situación nutricional de los individuos, es necesario considerar que muchas personas fuman por estar preocupadas por su peso, haciendo paralelamente dietas hipocalóricas, por otra parte el fumador suele beber mayor cantidad de alcohol y tener dietas menos cuidadas que el individuo no fumador (con menor cantidad de frutas y verduras), pero incluso a igualdad de ingesta, los fumadores tienen cifras sanguíneas menos adecuadas, por tener mayores necesidades de diversos nutrientes, especialmente de ácido fólico y de los que ejercen acciones antioxidantes.

Así, mientras que las ingestas recomendadas de vitamina C para un adulto no fumador son de 60 mg/día, éstas pasan a ser de 100 mg/día en fumadores (2, 16). En este sentido un estudio realizado con mujeres jóvenes (17) y otro realizado con ancianos (18) (Figura 5) puso de relieve la existencia de cifras séricas más inadecuadas para esta vitamina en los fumadores.

Es conocido que el hábito de fumar se asocia con mayor riesgo de sufrir diversas enfermedades degenerativas (cáncer, cardiovasculares...), en este sentido es posible que al efecto negativo en la salud del consumo de tabaco, haya que sumar la influencia del padecimiento de diversas carencias que también perjudiquen la salud del fumador (16). Teniendo en cuenta estos datos surge la posibilidad de establecer ingestas recomendadas específicas para individuos fumadores. Consideraciones que también serían aplicables a fumadores pasivos (19).

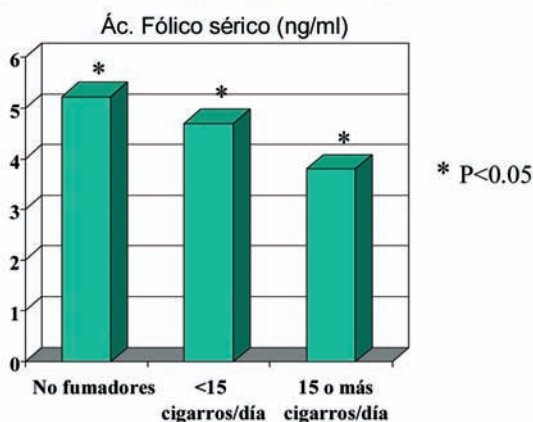
Actividad física

El ejercicio parece aumentar las necesidades de algunas vitaminas como tiamina, riboflavina y piridoxina por disminuir su absorción, aumentar su utilización, metabolismo o pérdidas, por incremento en los enzimas mitocondriales dependientes de nutrientes o por un aumento en las necesidades para el mantenimiento y reparación de tejidos (20).

En concreto, la riboflavina es necesaria para la síntesis de dos importantes coenzimas (FMN y FAD) que son especialmente importantes en el metabolismo de la glucosa, glicerol, ácidos grasos y aminoácidos, y en la producción de energía (21). Un estudio realizado con mujeres de 50-67 años, que recibieron una ingesta energética adecuada para mantener su peso, junto con diferentes aportes de riboflavina, puso de relieve que en las semanas en las que las mujeres se ejercitaron (2,5 h/semana)

FIGURA 5 | Concentraciones séricas de ácido fólico en ancianos. Diferencias en función del hábito de fumar.

Figura 5.- Concentraciones séricas de ácido fólico en ancianos. Diferencias en función del hábito de fumar



Ingesta de ácido fólico: 213.4 ± 82.3 $\mu\text{g}/\text{día}$ en fumadores (52.2% de ingestas < recomendadas)
 225.5 ± 86.9 $\mu\text{g}/\text{día}$ en no fumadores (37% de ingestas < recomendadas)

Ortega y col. (1994). J Am Coll Nutr 13:68-72

el coeficiente de activación de la eritrocito glutatión reductasa (α -EGR) (indicador de situación bioquímica en riboflavina) mostró resultados menos satisfactorios respecto a los observados en periodos sin ejercicio. En concreto fueron necesarios 0,22 mg de riboflavina/MJ para mantener la normalidad bioquímica cuando los sujetos realizaban ejercicio (22). Hacer dieta, o hacer ejercicio, aumenta los requerimientos de riboflavina, por encima de los establecidos en población general, pero la dieta (1.243 kcal/día) junto al ejercicio (2,5-5 h/semana) incrementa los requerimientos todavía más (0,38 mg de riboflavina/MJ) (20).

La piridoxina interviene en la movilización del glucógeno muscular y también está directamente implicada en el metabolismo de aminoácidos, por ello los requerimientos de esta vitamina se expresan con frecuencia en relación a la ingesta de proteínas, un aporte de 0,019 mg/g de proteínas puede ser necesario para mantener una buena situación en la vitamina (23). Esto es especialmente importante en deportistas por sus mayores necesidades y mayor ingesta proteica que la población general (que en conjunto presenta también aportes de proteínas de aproximadamente el doble de lo recomendado). En un estudio realizado por Manore y col. (24) se comprobó que a igualdad de ingesta de piridoxina las cifras de PLP en plasma eran menores en personas activas que en personas sedentarias.

En otro estudio van Dale y col. (25) examinaron el efecto del seguimiento de una dieta (884 kcal) o dieta más ejercicio en la situación en vitaminas de 12 varones obesos, los investigadores constataron un descenso en las concentraciones plasmáticas de PLP en el grupo sometido a dieta más ejercicio comparado con el grupo sometido a dieta únicamente.

Los datos relativos a las necesidades de tiamina son más escasos, pero algunos estudios ponen de relieve que un porcentaje variable de individuos activos puede tener deficiencia, las necesidades pueden ser todavía mayores en personas que hacen dieta y ejercicio para intentar perder peso (20).

Contenido en grasa corporal

Si tenemos en cuenta que el peso se emplea como base para establecer las ingestas recomendadas de energía (1-4) y de algunos nutrientes (Tabla I), es lógico pensar que algunas de las cantidades recomendadas pueden variar cuando se aplican a un individuo concreto.

Respecto a la importancia del peso en la modulación de las ingestas recomendadas, algunos estudios han puesto de relieve que las personas con sobrepeso/obesidad tienen situación más precaria, en relación con diversos micronutrientes, por una parte su ingesta de fibra, vitaminas y minerales suele ser inferior a la de individuos de peso normal, como consecuencia de unos hábitos de alimentación menos favorables (26).

Tabla I. Importancia del peso y de la ingesta energética para poder fijar la ingesta recomendada de otros nutrientes

Importancia del peso para fijar las ingestas recomendadas		La ingesta energética como condicionante de las ingestas recomendadas de diferentes vitaminas	
Proteínas	0,8 g/kg	Tiamina	0,4 mg/1.000 kcal
Folatos	3 μ g/kg	Riboflavina	0,6 mg/1.000 kcal
Magnesio	6 mg/kg	Niacina	6,6 mg/1.000 kcal
Vitamina K	1 μ g/kg		

Pero además, incluso a igualdad de ingesta, la situación bioquímica es más inadecuada para diversos nutrientes, por ejemplo antioxidantes, dado que la obesidad se asocia con el padecimiento de procesos oxidativos que pueden aumentar la necesidad de este tipo de nutrientes, por otra parte algunas vitaminas (como por ej. La vitamina D) al ser liposolubles se almacenan en tejido adiposo, haciendo que a igualdad de ingesta y de exposición al sol, los individuos con excesos de peso tengan una situación más precaria en esta vitamina (27). También se ha encontrado una situación más desfavorable en fólculo y tiamina, en mujeres con exceso de peso, respecto a las de peso inferior (28-30).

Teniendo en cuenta que el sobrepeso y obesidad son problemas de incidencia creciente en nuestra sociedad, que se asocian con un mayor riesgo de padecimiento de diversas patologías, se pone de relieve la necesidad de optimizar la ingesta, para que un aporte insuficiente de nutrientes no se sume al exceso de peso, contribuyendo a favorecer el progreso de deterioros sanitarios.

Otros datos que pueden modificar las ingestas recomendadas

La edad (2), el consumo de fármacos o el padecimiento de patologías (20), también contribuyen a modificar las IR para diversos nutrientes.

Consideraciones Finales

Pese a las limitaciones que existen en las ingestas recomendadas (que se marcan por exceso para cubrir las necesidades del 97,5% de las personas sanas), el porcentaje de individuos que no las cumplen es elevado, por lo que queda mucho por avanzar en este campo. En concreto, las guías en alimentación, que describen las características de la alimentación que permiten cubrir las ingestas

recomendadas y cumplir los objetivos nutricionales marcados como más convenientes, no se siguen, ni siquiera se conocen, por la mayor parte de los individuos. El realizar una valoración dietética, antropométrica y bioquímica del estado nutricional puede darnos información valiosa para modificar la ingesta de distintos nutrientes hasta conseguir que la situación bioquímica y funcional sea la óptima para cada individuo. Es conveniente avanzar en el conocimiento de las bases genéticas que pueden modificar las necesidades de nutrientes, pero hay herramientas a nuestro alcance a las que no se les está dando la debida importancia. Es deseable que estos aspectos y datos sean objeto de mayor atención en el futuro.

Bibliografía

1. Navia B, Ortega RM (2006). Ingestas recomendadas de energía y nutrientes. En: Nutriguía. Manual de Nutrición Clínica en Atención Primaria. 2ª Reimpresión, Requejo AM, Ortega RM eds. Editorial Complutense. Madrid, pg. 3-14.
2. Ortega RM (2002). Necesidades nutricionales del anciano. Bases para establecer unas ingestiones recomendadas adecuadas a este grupo de población. *Form Contin Nutr Obes* 5: 163-177.
3. Navia B, Perea JM (2007). Ingestas recomendadas de energía y nutrientes y objetivos nutricionales para la población femenina. En: Nutrición en población femenina: Desde la infancia a la edad avanzada. Ortega RM ed. Madrid: Ediciones Ergón. pg 115-126.
4. Ortega RM, López-Sobaler AM, Requejo AM, Andrés P. (2004). Ingestas recomendadas y Objetivos nutricionales para la población española. Pautas encaminadas a mantener y mejorar la salud de la población. En: Ortega RM, López-Sobaler AM, Requejo AM, Andrés P eds. La composición de los alimentos. Herramienta básica para la valoración nutricional. Ed. Complutense, Madrid. pg. 82-86.
5. Ortega RM, Requejo AM, Andrés P, Redondo MR, López-Sobaler AM, Quintas E, Navia B (1998). El rombo de la alimentación. Guía útil en la planificación de dietas ajustadas a las pautas recomendadas. *Nutr. Clin.* 16 (2): 35-43.
6. Ortega RM, Requejo AM (2006). Guías en alimentación: consumo aconsejado de alimentos. En: Nutriguía. Manual de Nutrición Clínica en Atención Primaria. Requejo AM, Ortega RM eds. Madrid: Editorial Complutense. pp. 15-26.

7. Aparicio A, Bermejo LM, López-Sobaler AM, Ortega RM (2007). Guías en alimentación que pueden ser utilizadas como orientación en la planificación de dietas para una semana. En: *Nutrición en población femenina: Desde la infancia a la edad avanzada*. Ortega RM ed. Madrid: Ediciones Ergón. pg 127-138.
8. Instituto Nacional de Estadística. Encuesta de Presupuestos familiares 1990-91. Estudio Nacional de Nutrición y Alimentación 1991. Instituto Nacional de Estadística. Madrid. 1991.
9. Instituto Nacional de Estadística. Encuesta de Presupuestos familiares 2003-04. Estudio Nacional de Nutrición y Alimentación 2004. Instituto Nacional de Estadística. Madrid. 2004.
10. Carbajal A, Ortega RM (2001). La dieta mediterránea como modelo de dieta prudente y saludable. *Rev. Chil. Nutr.* 28: 224-236.
11. Ortega RM, Mena MC, Faci M, Santana FJ, Serra L (2001). Vitamin status in different groups of the Spanish population: a meta-analysis of national studies performed between 1990 and 1999. *Public Health Nutrition* 4(6A): 1325-1329.
12. Ortega RM, Aranceta J, Serra L, Entrala A, Gil A, Mena MC (2003). Nutritional risk in the Spanish population: results of the eVe study. *Eur. J. Clin. Nutr.* 57 (Suplemento 1): S73-S75.
13. Ortega RM, Requejo AM, Quintas ME, Andrés P, Redondo MR, López-Sobaler AM. (1996) Desconocimiento sobre la relación dieta-control de peso corporal de un grupo de jóvenes universitarios. *Nutr Clin* 16: 147-153.
14. Ortega RM, Requejo AM, López-Sobaler AM, Navia B, Perea JM, Mena MC, Faci M, Lozano MC, Navarro AR. (2000). Conocimiento respecto a las características de una dieta equilibrada y su relación con los hábitos alimentarios de un colectivo de jóvenes universitarios. *Nutr Clin* 20: 19-25.
15. Quintas E, Andrés P (2006). Estudio Bioquímico. En: *Nutriguía. Manual de Nutrición Clínica en Atención Primaria*. 2ª Reimpresión, Requejo AM, Ortega RM eds. Editorial Complutense. Madrid, pg. 359-369.
16. Ortega RM (2006). Nutrición del Fumador. En: *Nutriguía. Manual de Nutrición Clínica en Atención Primaria*. Requejo AM, Ortega RM eds. Madrid: Editorial Complutense. pp. 324-331.
17. Ortega RM, Requejo AM, López-Sobaler AM, Navia B, Mena MC, Basabe B, Andrés P. (2004). Smoking and passive smoking as conditioners of folate status in young women. *J Am Coll Nutr* 23 (4): 365-371.
18. Ortega RM, López-Sobaler AM, González-Gross M., Redondo MR, Marzana I., Zamora MJ, Andrés P. (1994) Influence of smoking on folate intake and blood folate concentrations in a group of elderly Spanish men. *J Am Coll Nutr.* 13 (1): 68-72.
19. Ortega RM, López-Sobaler AM, Aparicio A, Bermejo LM, Rodríguez-Rodríguez E, Mena MC. (2007). Passive smoking as a conditioner of food habits and nutritional status: repercussions on health. En: *Passive Smoking and Health Research*, Jeorgensen NA ed. Nova Science Publishers, Inc, New York. pp. 123-144.
20. Manore MM. (2000). Effect of physical activity on thiamine, riboflavin, and vitamin B-6 requirements. *Am J Clin Nutr*; 72 (2 Suppl): 598S-606S.
21. McCormick DB (1999). Riboflavin. In: Shiles ME, Olson JA, Shike M, Ross AC, eds. *Modern nutrition in health and disease*. 9th ed. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, pg. 391-399.
22. Winters LR, Yoon JS, Kalkwarf HJ, Davies JC, Berkowitz MG, Haas J y Roe DA (1992). Riboflavin requirements and exercise adaptation in older women. *Am J Clin Nutr* 56: 526-532.
23. Huang YC, Chen W, Evans MA, Mitchell ME, Shultz TD (1998). Vitamin B-6 requirement and status assessment of young women fed a high-protein diet with various levels of vitamin B-6. *Am J Clin Nutr* 67:208-220.
24. Manore MM, Leklem JE, Walter MC (1987). Vitamin B-6 metabolism as affected by exercise in trained and untrained women fed diets differing in carbohydrate and vitamin B-6 content. *Am J Clin Nutr* 46: 995-1004.
25. Van Dale D, Schrijver J, Saris WHM (1990). Changes in vitamin status in plasma during dieting and exercise. *Int J Vitam Nutr Res* 60: 67-74.
26. Ortega RM, Andrés P, Requejo AM, López-Sobaler A, Redondo MR, González-Fernández M (1996). Hábitos alimentarios e ingesta de energía y nutrientes en escolares con sobrepeso en comparación con los de peso normal. *An Esp Pediatr* 44: 203-208.
27. Parikh SJ, Edelman M, Uwaifo GI, Freedman RJ, Semega-Janneh M, Reynolds J, Yanovski JA (2004) The relationship between obesity and serum 1,25-dihydroxy vitamin D concentrations in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 1196-1199.
28. Ortega RM, López-Sobaler AM, Andrés P, Rodríguez Rodríguez E, Aparicio A, Bermejo LM, López-Plaza B. (2006) Changes in folate status in overweight/obese women following two different weight control programs based on an increased consumption of vegetables or fortified breakfast cereals. *Brit J Nutr*; 96: 712-718.
29. Ortega RM, Andrés P, López-Sobaler AM, Rodríguez E, Aparicio A, Bermejo LM, García-González L, Basabe B (2006). Changes in thiamine intake and blood levels in young, overweight/obese women following hypocaloric diets based on the increased relative consumption of cereals or vegetables. *Eur J Clin Nutr* 61:77-82.
30. Ortega RM, López-Sobaler AM, Rodríguez Rodríguez E, Bermejo LM, García González L, López Plaza B. Respuesta ante un programa de control de peso basado en la aproximación de la dieta al ideal teórico. *Nutr Hosp* 2005; 20 (6): 393-402.

The background of the slide features a stylized, light blue DNA double helix structure on the right side, spiraling upwards. To the left of the helix, there are several dark blue circles of varying sizes and thin, intersecting lines, creating a network-like pattern. The overall color palette is light blue and white, with dark blue accents for the text and graphics.

Capítulo 7

Importancia de la interacción
dieta-genética en la prevención
cardiovascular

Capítulo 7

Importancia de la interacción dieta-genética en la prevención cardiovascular

Francisco J. Sánchez-Muniz y Meritxell Nus

Departamento de Nutrición. Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense de Madrid

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) tienen una etiología multifactorial. Los cambios del estilo de vida, en particular el seguimiento de una dieta cardiosaludable, ha sido considerado como la piedra angular en la prevención y tratamiento de las ECV. En la actualidad se considera que muchos efectos de la dieta se deben a modulación de la expresión génica por parte de algunos componentes de la dieta. Sirva como ejemplo la modificación observada en la expresión de la proteína del receptor para Apo B (mARN del receptor para LDL) por los ácidos grasos saturados (AGS) respecto a ácidos grasos insaturados o por el consumo de los diterpenos del café. Sin embargo, existe una amplia variabilidad en la respuesta a cambios dietéticos entre individuos. Muchos estudios han revisado la existencia de interacciones nutriente-genética en la respuesta a la concentración de lípidos y lipoproteínas debidas a cambios dietéticos, particularmente del contenido de colesterol y AGS. Estos estudios analizan genes candidatos que expresan receptores, enzimas, apolipoproteínas (Apo) cuya acción es clave en el metabolismo lipoproteico. Entre los loci estudiados destaca el gen APO E, en particular debido a los polimorfismos $\epsilon 2$ y $\epsilon 4$.

Otros loci, relacionados con la expresión de Apo AIV, Apo A1, CETP, LPL, alcohol deshidrogenasa, paraoxonasa/arilesterasa parecen jugar un papel importante, no sólo en la regulación de los niveles de lipoproteínas sino también de otros factores (p.e. peroxidación o respuesta antioxidante). En esta ponencia se revisarán algunos estudios clásicos y centrales de la bibliografía, así como otros más recientes y de nuestro grupo, en los que se observa diferente respuesta en unos individuos respecto a otros tras el consumo de diferentes tipos de dietas o incluso de alimentos o ingredientes funcionales.

Abreviaturas: ACAT: acil CoA:colesterol aciltransferasa; ADH: alcohol deshidrogenasa; Apo: apolipoproteínas; AGS: ácidos grasos saturados; AGM: ácidos grasos monoinsaturados; AGP: ácidos grasos poliinsaturados; CETP: proteína transferidora de colesterol esterificado; ECV: enfermedad cardiovascular; LDL-C: LDL-colesterol o colesterol transportado por lipoproteínas de baja densidad; LPL: lipoprotein lipasa; LPO: lipoperóxidos; HMG-CoA reductasa: hidroximetil-glutaril-CoA reductasa; LFABP: proteína hepática de unión a ácidos grasos; PON: paraoxonasa; PPARs: receptor activador de la proliferación de peroxisomas;

SR-B1: receptor scavenger de las lipoproteínas de alta densidad o HDL; SREBP: Sterol regulatory element binding protein; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.

Enfermedades cardiovasculares y aterosclerosis

La aterosclerosis es una enfermedad multifactorial que comienza a desarrollarse en la infancia o incluso en el embarazo y tarda bastantes años en manifestarse. El término aterosclerosis se aplica a diversos tipos de procesos que producen una lesión proliferativa de las capas íntima y media arterial, tras la formación de acúmulos fibroadiposos conocidos por ateromas, que terminan por invadir la luz de las arterias y junto con procesos trombóticos, comprometen la funcionalidad circulatoria de los vasos originando un proceso de índole isquémica. Sus principales formas de expresión clínica son la cardiopatía coronaria, la patología vásculo-cerebral y la arteriopatía periférica, que constituyen la primera causa de muerte en Europa en general (1) y en España en particular (2).

La etiología de la aterosclerosis no está aún bien definida, aunque existen varias hipótesis que explican su inicio (3, 4). En 1989 se desarrolló la hipótesis unificadora de la teoría lipídica de la aterosclerosis y la respuesta al daño endotelial con los conocimientos sobre el papel de las LDL oxidadas (LDLox), tanto en el inicio como en la progresión del proceso aterosclerótico (5).

Diferentes estudios han definido ciertos factores de riesgo cardiovascular modificables (tabaquismo, hipertensión, hipercolesterolemia, obesidad, hiperinsulinemia, trombogénesis, etc.) y no modificables (edad, sexo, carga genética, la personalidad tipo A, etc.) que informan de la probabilidad de un individuo a sufrir un evento cardiovascular.

Además, hoy aceptamos que la enfermedad cardiovascular (ECV) es multifactorial y de base multigénica donde la contribución de cada uno de los genes implicados va a ser relativamente modesta y donde muchas veces no se cuenta con alteraciones conocidas de ningún gen, sino con presencia de factores inductores ambientales negativos. Por tanto, los cambios en la incidencia no pueden achacarse a razones puramente genéticas (6), ya que éstas acontecen muy lentamente. Parece más determinante que se deban al envejecimiento general de la población y a los cambios en los hábitos de vida, el estrés y la dieta y la influencia que todos estos efectos tienen sobre nuestro genoma.

Papel de la dieta en la prevención de la aterosclerosis

La relación entre dieta y aterosclerosis está mediada fundamentalmente por la influencia de aquélla sobre la composición de las lipoproteínas plasmáticas y el estrés oxidativo.

Sobre las implicaciones nutricionales que en general tienen las grasas y los aceites se han vertido en muchas ocasiones informaciones contradictorias. Sin embargo, se ha llegado a un consenso y así instituciones internacionales como la American Heart Association (AHA) (7), la Sociedad Española de la Nutrición (SEN) y el Departamento de Nutrición de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense (8) han redactado informes para promover el consumo cardiosaludable de grasas. Entre ellas cabe destacar:

1. Limitar la ingesta de ácidos grasos saturados (AGS) y *trans*:
 - 1.1. Los AGS son los principales componentes de la dieta que regulan los niveles de LDL-colesterol (LDL-C). Este objetivo nutricional atañe en particular a los ácidos láurico, mirístico y palmítico. Se recomienda que su ingesta sea inferior al 7% de la energía total de la dieta.

- 1.2. Ácidos grasos *trans*. Su ingesta incrementa los niveles de LDL, lipoproteína (a) y disminuye los de HDL. Se recomienda que su ingesta no supere el 1-2% de la energía total de la dieta.
2. Limitar la ingesta de alimentos ricos en colesterol. El colesterol de la dieta incrementa los niveles de LDL-C aunque en menor medida de cómo lo hacen los AGS y los ácidos grasos *trans*. Se recomienda el consumo de no más de 300 mg de colesterol/día o de 100 mg/1.000 kcal.

La disminución del consumo de AGS y ácidos grasos *trans* puede conseguirse consumiendo ciertos alimentos sin necesidad de reducir la ingesta energética. Así, las reducciones de LDL-C que se producen suelen ser similares al sustituir los AGS por hidratos de carbono o por grasa insaturada. Además, ciertas fibras solubles (p.e. avena, *psillium*, pectina y goma Guar) reducen particularmente los niveles de LDL-C en individuos hipercolesterolémicos (9).

Numerosos estudios han asociado el consumo de ácido oleico con la disminución de los niveles de LDL-C y el aumento de los niveles de HDL-C (10-12).

Asimismo, se ha relacionado el consumo de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) ω -3 procedentes del pescado con una disminución de los triglicéridos y del riesgo cardiovascular (13). Además, los AGP ω -3, eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), confieren efectos cardioprotectores más allá de la mejoría del perfil lipoproteico. Tales acciones implican reducción de incidencia de muerte súbita, decrecimiento del riesgo de arritmia y tendencia reducida a la coagulación sanguínea y agregación plaquetaria (14, 15). Sin embargo, debemos mencionar que en un meta-análisis de todos los estudios realizados hasta el año 2002 publicado recientemente (16) en sujetos que ingerían durante más de 6 meses AGP ω -3 se concluyó que,

en términos generales, su consumo no disminuye la mortalidad ni el riesgo de tener ECV (16). Estos resultados difieren de los de otro meta-análisis previo en el que se relacionaba la ingesta de AGP ω -3 con la disminución del riesgo cardiovascular (17). Otros estudios (18,19) han postulado que el cociente del consumo de AGP ω -6/ ω -3 es un buen predictor de ECV, aconsejándose un cociente ω -6/ ω -3 de 4:1 ó 5:1 (14, 15, 20).

Además existen una serie de micronutrientes y antioxidantes que pueden prevenir o retardar la oxidación de las LDL, por lo que son factores protectores potenciales de aterosclerosis. Se incluyen dentro de este grupo de antioxidantes: fibra, terpenoides, fitoesteroles, fitoestrógenos y vitaminas (21, 22).

Genes, dieta y aterosclerosis

El fenotipo de un individuo (y por tanto su estado de salud) es el resultado de interacciones entre el genoma y los factores desencadenantes (infecciones, estrés, traumatismo, nutrición y patrones de actividad física) que modulan y afectan a la liberación celular de diferentes agentes de comunicación intercelular como neurotransmisores, neurohormonas, prostaglandinas, interleuquinas, etc. Este lenguaje celular actúa alterando la expresión génica en diferentes lugares de nuestra economía, modificando la síntesis proteica y por tanto la función de muchos órganos y sistemas.

Actualmente se ha introducido el concepto de edad molecular, mediante el cual puede afirmarse que uno es tan viejo o tan enfermo como lo es su transcriptoma (23). El transcriptoma sería una medida de la respuesta individual del genoma al ambiente. Un transcriptoma asociado a una célula sana joven o a una célula enferma vieja puede ayudarnos a entender el entramado de una vejez sana y en todo caso mover a la gente hacia un final ideal: vejez sana.

La ECV es mucho más prevalente y de aparición más temprana en individuos que tienen modificado su fenotipo (p.e. alteración en la concentración de marcadores de riesgo cardiovascular: CT, LDL-C, triglicéridos, agregación plaquetaria, factores de la coagulación, etc.). Por tanto no parece descabellado estudiar la posible implicación en tal fenotipo de aquellos genes que estén implicados en la producción de dichos marcadores de riesgo cardiovascular. Esta investigación de genes candidatos, presenta grandes limitaciones, ya que cada día se descubren nuevos polimorfismos potencialmente implicados y es imposible estudiarlos todos. A veces, las modificaciones son pequeñas, otras existen interacciones entre varios genes o un individuo puede presentar un polimorfismo en el que exista una mutación protectora y otra inductora. No obstante, la susceptibilidad genética para desarrollar la ECV existe y se conocen algunos genes candidatos cuyos polimorfismos explican parcialmente la mayor prevalencia de enfermedad en sus portadores.

Dieta y expresión génica

Numerosos modelos experimentales han demostrado durante las últimas décadas que los AGP y en menor medida los monoinsaturados (AGM) son capaces de regular la expresión génica, siendo los más estudiados aquellos genes que codifican enzimas responsables de la lipogénesis y de la oxidación de ácidos grasos.

Hoy sabemos que los AGP pueden actuar directamente, o a través de sus metabolitos, sobre una familia de factores de transcripción conocidos como PPARs, así como otros factores de transcripción (Sterol regulatory element binding protein o SREBP), HNF4, TR y los receptores estrogénicos entre otros (24-26), modulando su actividad y/o niveles. Consecuentemente, estos factores de transcripción interaccionan con elementos *cis* en genes diana regulando de esta manera su expresión.

Los SREBP regulan la integridad de las membranas celulares equilibrando la concentración de colesterol y AGS, AGM y AGP. Estos factores son liberados de la membrana del retículo endoplásmico por una proteína activadora denominada SCAP, provocando la activación de genes que codifican enzimas implicados en la síntesis de colesterol y ácidos grasos (27). Hay que destacar el SREBP1 que regula en los genes del receptor de LDL (28), en el enzima hidroximetil-glutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa) (29), ácido graso sintasa (26), receptor *scavenger* de las HDL (SR-B1) (30) y la proteína transferidora de colesterol esterificado (CETP) (31).

Los PPARs son factores de transcripción pertenecientes a la superfamilia de receptores nucleares de hormonas y están involucrados en la regulación del metabolismo glucídico y lipídico, así como en la diferenciación del adipocito y en la respuesta inflamatoria. Los ligandos naturales de los PPARs son ácidos grasos, preferentemente AGP y sus metabolitos. Se dividen en varios grupos:

- PPARs- γ participa en la diferenciación del adipocito y en el acúmulo de grasa, por lo que se expresa fundamentalmente en tejido adiposo (32).
- PPARs- α participa en el control metabólico de la oxidación de ácidos grasos en combinación con el cofactor CSR (33). Se ha relacionado un aumento de la concentración de AGP con la activación del PPARs- α originando un aumento de la β -oxidación mitocondrial, así como estimulación de la proteína transportadora de AG y de la acil-CoA sintasa (34). Además estimula la síntesis de apo AI, apo AII, lo que determina un aumento de los niveles circulantes de HDL, así como de los genes de lipoprotein lipasa (LPL), apo CII, que en combinación con un descenso de la apo CIII induce una disminución en los niveles de triglicéridos (35).

Otro ejemplo interesante es el caso del efecto del cafestol sobre el receptor de LDL (21). El incremento de colesterol sérico en sujetos consumiendo cafestol puede ser hipotéticamente explicado por un efecto primario del cafestol sobre la vía metabólica del SREBP. Los esteroides inducen "cleavage" proteolítico del dominio terminal del -NH₂ del SREBP. Este dominio subsecuentemente se une a secuencias específicas del ADN modulando la transcripción de ciertos genes relacionados en el metabolismo lipídico como los genes del HMG-CoA reductasa, lipoprotein lipasa (LPL) y del receptor de LDL (21). Se han propuesto varias hipótesis por las que el cafestol podría incrementar las LDL (Figura 1, página 132): i) El cafestol modularía el *pool* de colesterol libre en el hepatocito actuando sobre el SREBP e inhibiendo la actividad del enzima acil CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT), y por tanto la conversión del colesterol libre en colesterol esterificado, aunque esto último aún no ha sido determinado (36); ii) El cafestol podría inhibir la actividad del enzima colesterol 7 α -hidroxilasa, un enzima limitante de la conversión de colesterol en ácido cólico, ya que aunque no afecta la formación de ácidos biliares en células HepG2 (36), sí decrece la masa de producción de ácido biliar en los hepatocitos de forma dosis-dependiente. Así, el colesterol que llegara al hígado sería directamente exportado de este órgano como componente de VLDL₂ incrementándose en estas partículas el cociente colesterol esterificado/triglicéridos. Estas VLDL₂ son rápidas y eficientemente convertidas en LDL (37). Por otro lado, se ha señalado que el cafestol disminuye casi un 40% los niveles de ARNm para el receptor LDL en ratones transgénicos E*3-Leiden (38) explicando un mecanismo complementario de los efectos hipercolesterolemiantes del cafestol, vía SREBP.

De forma similar se ha propuesto que los AGS son sustratos que esterifican pobremente el colesterol incrementando el *pool* de colesterol libre a través de disminuir la actividad ACAT hepática (39).

Sin embargo, los AGM y AGP, serían buenos sustratos para dicha esterificación incrementando el *pool* de colesterol esterificado posiblemente a través de estimular la actividad del enzima hepático ACAT (39) (Figura 1b, página 132). Este proceso estaría ligado igual que en el cafestol al factor de transcripción SRBEP. A su vez, el tamaño del *pool* colesterol libre sería un regulador de la expresión génica del ARNm del receptor para LDL. Por tanto, los AGS inhibirían la expresión del receptor para LDL y contribuirían a elevar los niveles plasmáticos de LDL-C. El efecto contrario se observaría para los AGM (como el oleico) o los AGP (como el linoleico).

En la Figura 2-página 133 se presenta un esquema integrador de los procesos mediante los cuales los ácidos grasos ω -3 modulan la expresión de diferentes factores (NO, citoquinas, prostaglandinas, etc.) de gran importancia en la protección cardiovascular (40).

Polimorfismos genéticos más comunes relacionados con la variabilidad de respuesta a la dieta

El desarrollo de las ECV es consecuencia de la interacción compleja entre factores genéticos y ambientales, entre los que la dieta posee un importante papel. Numerosos estudios avalan la hipótesis de que el efecto de la dieta sobre las ECV se encuentra enmascarado por la variabilidad genética de cada individuo dando lugar a efectos de muy diversa índole (41, 42). Así pues, si profundizamos en el conocimiento de las interacciones dieta-genes podremos por un lado, profundizar en el conocimiento de la patogénesis de las ECV; y por otro, llevar a cabo intervenciones dietéticas y recomendaciones personalizadas teniendo en cuenta los factores genéticos.

Hasta el momento se han completado un número limitado de estudios sobre la interacción gen-dieta, debiendo resaltarse los resultados del estudio Framingham (43-46).

FIGURA 1 | Mecanismo propuesto para explicar el diferente efecto de los ácidos grasos saturados y el cafestol respecto a los ácidos grasos insaturados sobre el colesterol (LDL-colesterol). En el esquema aparecen dos **pool**es hepáticos de colesterol. El libre actuaría como **pool regulador** de la expresión génica a través del SREBP. El **pool** esterificado como **pool de reserva**. Un aumento del **pool regulador** implicaría una menor formación de receptores para LDL-C y menor síntesis de endógena de colesterol (inhibición de la hidroximetilglutaril-CoA reductasa). El efecto contrario se observa para una disminución del tamaño del **pool regulador**.

Figura 1a. Los ácidos grasos saturados son mal esterificantes de colesterol por lo que el colesterol que entra al hígado quedaría como colesterol libre, desencadenando una cadena de acontecimientos que llevarían a elevar la colesterolemia. De forma equivalente el cafestol llevaría a inhibir la expresión de receptores. Se ha propuesto (no mostrado en el esquema) que el cafestol al inhibir la formación de ácido cólico a partir del colesterol libre contribuiría a elevar el pool de colesterol libre.

Figura 1b. Los ácidos grasos insaturados esterifican bien al colesterol libre contribuyendo a disminuir el pool regulador con lo cual se mantiene elevada la expresión de la proteína del receptor para LDL.

Adaptado de de Ross et al. (36) y Dietschy et al. (39)

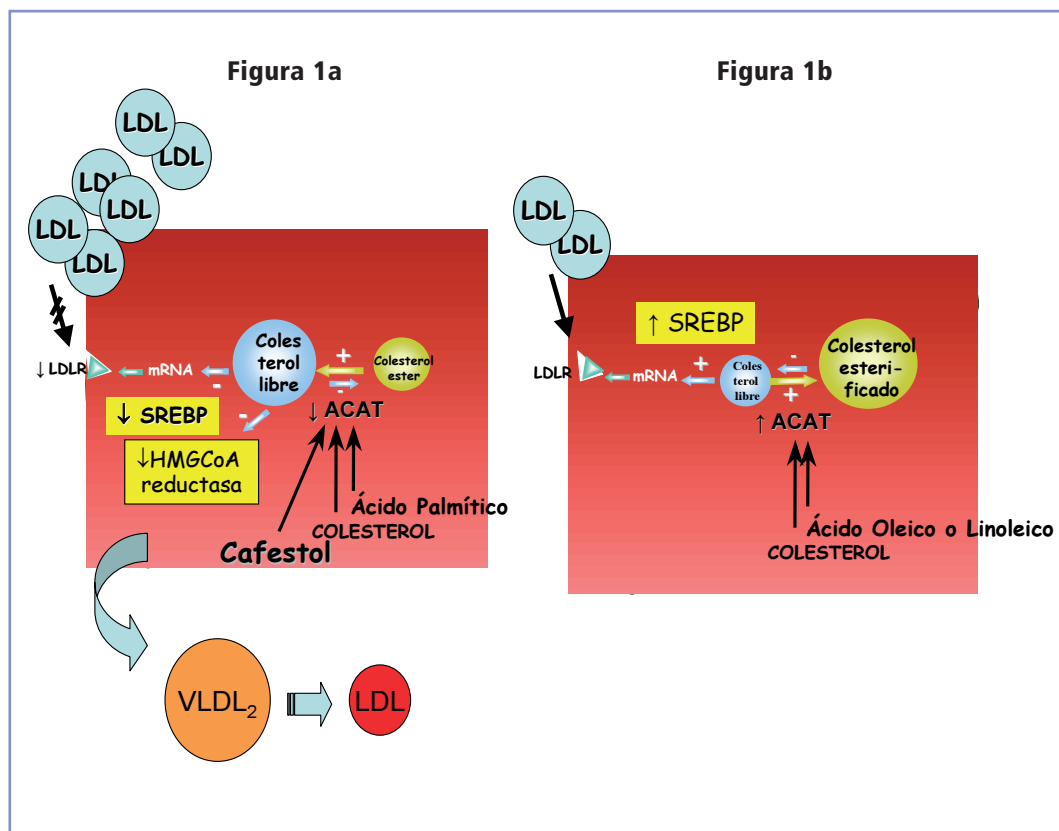
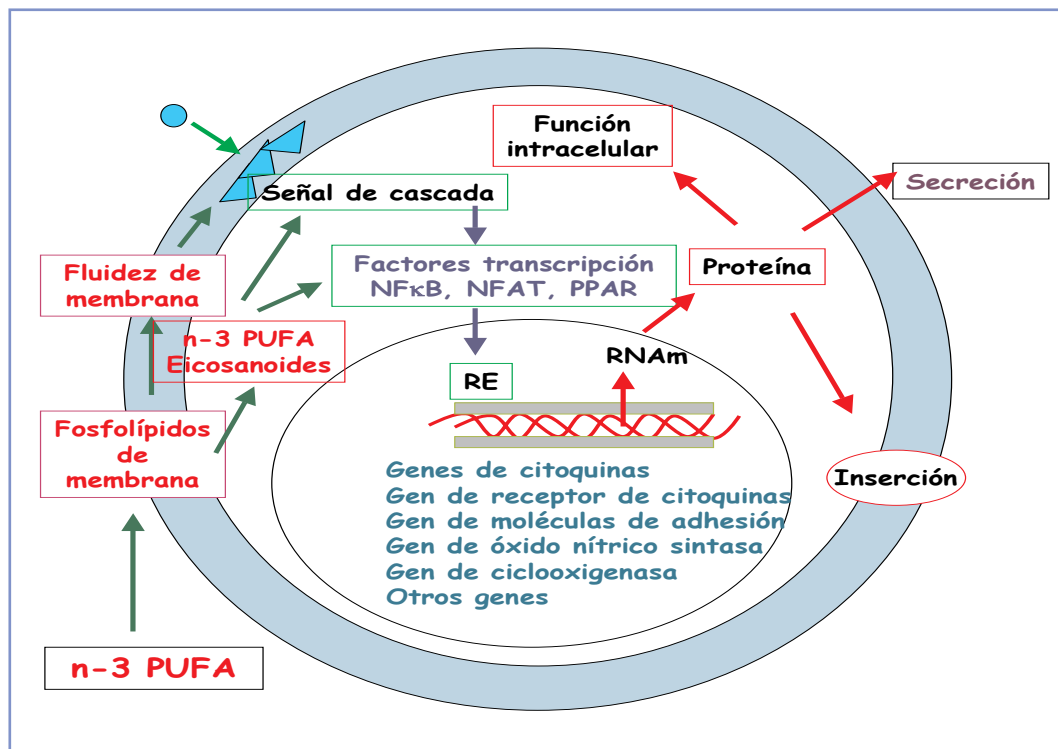


FIGURA 2 | Mecanismo mediante el cual los ácidos grasos insaturados n-3 o sus metabolitos modulan mecanismos antioxidantes, antiinflamatorios, inmunes. Los ácidos grasos poliinsaturados n-3, modifican la fluidez y permeabilidad de membrana. Esto implica que mensajes procedentes de células vecinas pueden activar una cascada de procesos celulares que llevan a la activación de factores de transcripción, los cuales a su vez inducen la expresión de diferentes genes que sintetizan proteínas con diferentes funciones. Adaptado de Miles y Calder (40). PPAR: receptor activador proliferación de peroxisomas; NFAT: factor transcripción nuclear células T activadas; NFκB: Factor Nuclear kappa B; RE: elemento de respuesta.



Hay otros dos estudios importantes en marcha, el Predimed (47) en España y el Medi-RIVAGE (48) en Francia, pero aún no han publicado sus resultados. La información más abundante sobre la interacción dieta-ECV se refiere a los genes *APO A1* (43,49-52), *APO E* (53-64) y *APO AIV* (67-69) que se resume en la Tabla 1-Página 134-135. En ella se recogen estudios clásicos y relevantes. No obstante comentaremos brevemente algunos aspectos en los que están implicados dichos genes.

Gen *APO-A1*: La apolipoproteína (apo) A1 es la apo mayoritaria de las HDL. Altos niveles de apo A1 se han relacionado con un menor riesgo de ECV (65). En los humanos, el gen *APO A-1* está junto a los genes de la *APO AIV* y la *APO C3* en el brazo largo cromosoma 11 (66). Existe en la región reguladora en posición -75 pdb y muy cerca del sitio de inicio de la transcripción un polimorfismo debido a la sustitución de A por G (66). La presencia de la mutación A→G se asocia normalmente con valores incrementados de HDL-C (66).

Tabla I. Características y resultados de algunos de los estudios más representativos donde se analiza la interacción de los polimorfismos más prevalentes en los genes APO AI, APO E y APO AIV con la dieta

APOAI			
Xu et al. (49)	204 niños italianos (8-11 años)	Intervención dieta (Baja grasa y colesterol)	El alelo A se asoció con niveles más elevados de CT, LDL-C, apoB y apoA1 sobretodo en chicos. No interacción dieta-genética.
López Miranda et al. (50)	50 hombres jóvenes españoles	Intervención dietética (Baja grasa. Alta MUFA)	Después del consumo de MUFA se observó incremento en LDL-C en G/A, pero no en individuos G/G
Carmena-Ramón et al (51)	69 hombres y mujeres españoles heterocigotos para FH	30% grasa, 10%En como AGS y 300 mg colesterol vs. Dieta NCEP I	Los FH con alelo A tenían niveles basales más bajos de TC, LDL-C y apoB pero responden a dieta LF con reducciones similares en TC y HDL-C comparados con homocigotos para el alelo G
Mata et al. (52)	50 hombres y mujeres	28 días dieta rica en AGS (17%En); 28 días dieta rica en AGM (22%); 35 días dieta rica en AGP (13% En)	Tras la ingesta de la dieta rica en AGP y respecto de la dieta rica en AGS, las mujeres heterocigotas AG para apoAI presentaban un mayor CT y una disminución de los niveles de LDL-C
Ordovás et al. (43)	755 hombres y 822 mujeres	Estudio de Framingham	Cuando la ingesta de PUFA era menor a un 4% de la dieta total las mujeres portadoras de G tenían valores mayores de HDL-C que las mujeres A. Cuando el aporte de AGP a la dieta era superior a un 8% las mujeres portadoras de A tenían valores mayores de HDL-C que las G
APO E			
Tikkanen et al. (53)	110 hombres y mujeres	Alta grasa-alto colesterol vs. Baja grasa alta PUFA/SUFA. Controlado	Significativo efecto de APOE en los niveles de lípidos del plasma. Mayores reducciones de CT en Apo E4
Savolainen et al. (54)	44 hombres y mujeres sanos de mediana edad	Baja grasa-pobre colesterol vs. alta en grasa y colesterol. Controlada.	El cambio absoluto y relativo de las dietas fue igual en E3 y E4
Manttari et al. (55)	117 hombres dislipémicos. Placebo Helsinki Heart Study)	Dietoterapia, consejo	Los niveles basales fueron semejantes en los diferentes alelos. E4 mayores reducciones en colesterol total y LDL-C
López-Miranda et al. (56)	128 hombres y mujeres	Alta grasa-alto colesterol vs. Baja grasa y bajo colesterol. Controlado	En E4 las reducciones de LDL-C fueron más elevadas
Dreon et al. (57)	102 hombres normales	Alta grasa vs. Baja grasa	La reducción de LDL-C fue más elevada en sujetos con el E4
Clifton et al. (58)	120 hombres y mujeres normolipidémicas	Baja grasa bs. Baja grasa + dos suplementos (uno alta grasa alto colesterol; el otro libre de grasa	La reducción de LDL-C fue más elevada en los hombres con E4
Zambón et al. (59)	122 mujeres y hombres hipercolesterolémicos (27, 48, 47)	Alta en MUFA vs. Baja en grasa.	El fenotipo apoE no fue un predictor significativo de la respuesta

Tabla I. Características y resultados de algunos de los estudios más representativos donde se analiza la interacción de los polimorfismos más prevalentes en los genes APO AI, APO E y APO AIV con la dieta

APO E			
Lefevre et al. (60)	103 hombres y mujeres (11, 57, 35)	Alta en grasa-alto en colesterol vs. AHA paso I vs. baja en grasa baja en colesterol. Controlada.	El fenotipo apoE no fue un predictor significativo de la respuesta
Pasagian-Macaulay et al. (61)	488 mujeres sanas (71, 288, 120) 9 E2/E4	Intervención baja grasa.	La magnitud del cambio en colesterol y LDL-C no dependió del genotipo de APOE
Dixon et al. (62)	125 niños 4 años (6, 94,25)	Intervención dietética baja grasa.	La magnitud del cambio en colesterol y LDL-C no dependió del genotipo de APOE
Loktionov et al. (63)	65 hombres y mujeres sanas 20-73 años (7,45,13)	Té (6 bolsitas de té negro/d) y placebo, cruzado (agua cafeína, leche, azúcar)	Beber té se asoció con disminución de HDL-C en E3/E3 así como disminución de los triglicéridos y PAI-1 en E2/E3
Weggemans et al. (64)	530. Combinación de estudios.	214 individuos: grasa saturada; 82: grasa trans; 108 colesterol dietético; 120 cafestol	La respuesta a grasa saturada fue 0,08 mmol/L más alta en portadores E4 que en E3/E3. La respuesta a cafestol fue 0.11mmol/L más baja en y LDL-C no dependió del genotipo de APOE. La respuesta a colesterol en dieta o a grasa <i>trans</i> fue similar para los diferentes APOE
Sánchez-Muniz et al. (71)	202 hipercolesterolémicos	Margarina con fitosteroles (dos niveles) vs. Margarina sin fitosteroles. Controlado	La respuesta a placebo incrementa CT y LDL-C en APOE2 que en APOE3 y tiende a ser mayor en varones. Las mujeres APOE4 el CT y LDL-C no descienden significativamente respecto a basal.
APO AIV			
Mata et al. (67)	93 hombres y 60 mujeres postmenopáusicas	2 dietas: una dieta NCEP-1 y una dieta típica americana rica en grasa saturada.	Los individuos APOAIV*2 tenían una respuesta disminuida de cambios en la LDL-C y disminución de HDL-C en una terapia consistente en reducir la grasa total y el colesterol para AGS y AGM.
Jansen et al. (68,69)	41 individuos sanos	3 dietas durante 4 semanas cada una: una rica en AGS, una NCEP-1 y otra rica en AGM	<p>– Después de la dieta saturada los individuos APOAIV*2 tuvieron un mayor descenso de HDL-C y apoAI. El cambio de la dieta NCEP-1 por la de AGM resultó en incrementos en HDL-C y apoAI en relación con los APOAIV*1. Esto sugiere que los APOAIV*2 serían los individuos diana para una terapia con AGM (68).</p> <p>– Los individuos 347Ser presentaban un mayor descenso en el CT, LDL-C y apoB que los homocigotos 347Thr tras la dieta NCEP1. De forma similar, el cambio a la dieta rica en AGM resultó en un mayor incremento de LDL-C y Apo B (69)</p>

Muy interesantes son los resultados encontrados recientemente por Ordovás et al (43) que relacionan el consumo de AGP, la mutación para *APO A1* y los niveles de HDL-C (Tabla I).

Gen *APO E*: La Apo E es una Apo presente en los quilomicrones, VLDL, IDL y HDL. Una deficiencia de dicha Apo implica acúmulo de remanentes de quilomicrones y alteración en el aclaramiento de lipoproteínas ricas en triglicéridos conteniendo apoB48 y apoB100. Las variaciones genéticas del locus de la *APO E* dan lugar a tres alelos comunes E*4, E*3 y E*2. Los niveles de LDL-C y de ApoB son más elevados en individuos E4, intermedios en aquéllos con la isoforma E3 y más bajos en los E2 (66).

La variabilidad de respuesta a la dieta parece tener un componente importante en los polimorfismos de la *APO E* (66). Así los niveles de colesterol se elevan más en respuesta a dietas ricas en colesterol y grasa saturada en los individuos E4. Estos datos sugieren a su vez que los niveles elevados de LDL-C aparecerían en individuos E4 sólo al consumir dietas aterogénicas, mientras que una dieta vegetariana daría niveles normales de colesterol en tales individuos y otra aterogénica daría niveles prácticamente normales en individuos E2. Los estudios más importantes se resumen en la Tabla I.

Gen *APO AIV*: La función precisa de la Apo AIV no se ha definido aún con precisión, aunque se piensa juega un papel importante en la absorción de grasa y la síntesis y aclaramiento de los quilomicrones (66).

La mutación más común acontece a nivel 360 mediante la sustitución de glicina por histidina lo que implica dos isoformas, ApoAIV*1, la más abundante, y ApoAIV*2. Adicionalmente se ha observado que los individuos con la isoforma apo AIV*1 pueden presentar una mutación relativamente frecuente (Treonina 347→Serina) (66).

Los resultados más interesantes se resumen en la Tabla I.

La información combinada para Gln360 → His y Thr347 → Ser sugiere la respuesta de LDL-C a cambios en la grasa dietética en el siguiente orden: 347Ser/360Gln > 347Thr /360Gln > 347Thr/360His. El incremento de la entrada al hígado de colesterol reprimiría la expresión de receptores para LDL con el consiguiente incremento de LDL-C. Por tanto, una dieta rica en grasa saturada produciría un mayor incremento en LDL-C en los portadores de 347Ser (66) (Tabla I).

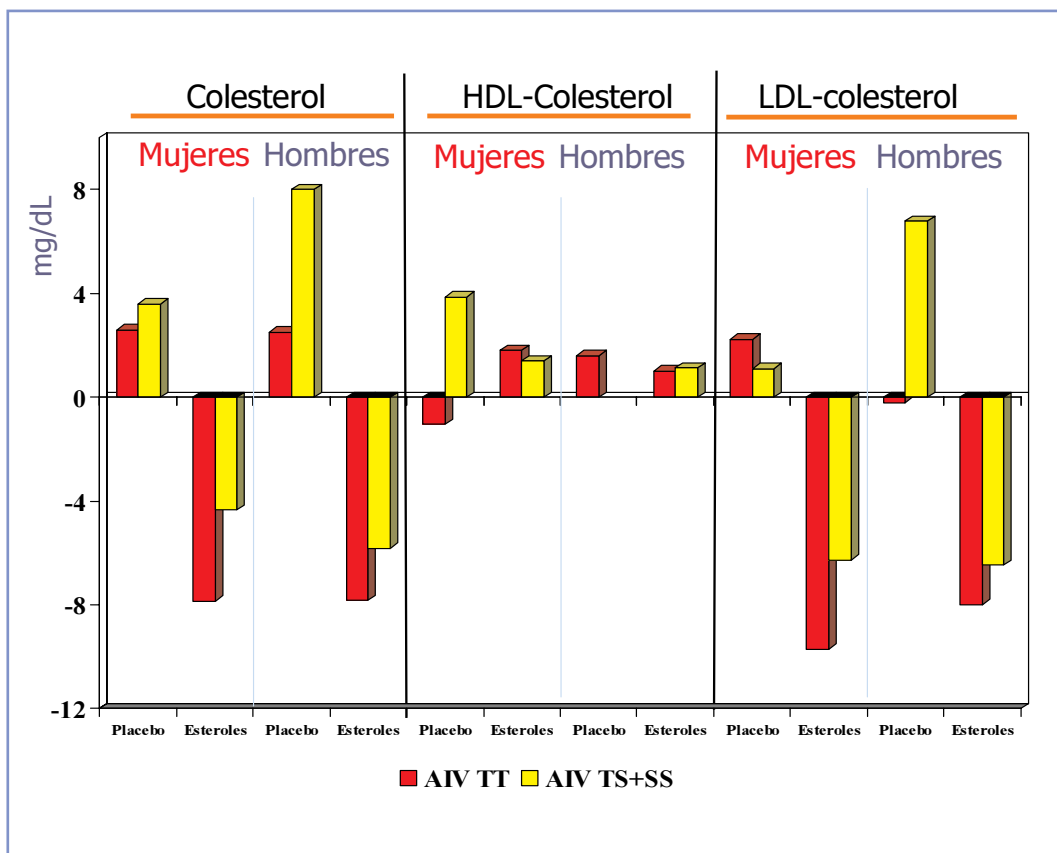
El consumo de fitosteroles ha demandado enorme interés en las últimas décadas debido a sus efectos reductores de la absorción de colesterol (22). Sin embargo, la variabilidad en la respuesta es amplia y posiblemente relacionada con diferencias en la absorción de colesterol. Muchos estudios han analizado la interacción del tratamiento con fitosteroles y genes. En términos generales los trabajos de Mensink et al. (70) señalan que no existe una interacción significativa entre fitosteroles y polimorfismos de genes clásicos (*APO E*, *APO AIV*, *CETP*), con lo que todos los individuos serían buenos candidatos para la terapia hipocolesterolemizante con fitosteroles (70). Nuestro grupo ha estudiado la posible interacción en población hipercolesterolémica de mutaciones de genes candidatos sobre los efectos hipolipemiantes de los fitosteroles añadidos en margarinas en el marco de una dieta paso I NCEP. Los portadores de la mutación en la *APO AIV*347 (fundamentalmente los hombres) tendieron a ser menos sensibles al tratamiento con los fitosteroles; las mujeres sin mutación incrementaron más los niveles de HDL-C por el tratamiento (71) (Figura 3).

A continuación se resumen algunos datos de estudios donde se analizan genes candidatos menos estudiados.

Gen PPAR-A: presenta un polimorfismo en la posición 162 debida a la sustitución de una leucina por una valina. Tai y col. (46) en el estudio Framingham estudiaron la relación entre la ingesta de grasas y el polimorfismo L162V. Se vio que los individuos 162V que ingerían menos de un 4% de AGP presentaban mayores valores de triglicéridos (28). Sin embargo, cuando se ingería una dieta con más de un 8% de AGP los portadores 162V tenían valores menores de triglicéridos que los homocigotos L (28). Además este efecto era igual para AGP- ω 3 y ω 6 (46).

Gen Lipasa hepática. Esta enzima hidroliza los fosfolípidos y los triglicéridos de todas las lipoproteínas, pero en especial de las HDL maduras (72). Presenta un polimorfismo en la región reguladora en posición -514 debida a una sustitución de C por T. Se ha relacionado previamente que los portadores de T presentan menores niveles de lipasa hepática, y mayores concentraciones de HDL-C y en particular de las HDL-C grandes (73). Sin embargo, fueron Ordovás et al. (44) con los individuos del estudio Framingham los que encontraron una interacción gen-dieta y niveles de HDL-C.

FIGURA 3 | Efecto del consumo de margarinas conteniendo fitosteroles sobre el colesterol total, LDL-C y HDL-C. Se comparan los efectos frente a placebo en hombres y mujeres que presentan o no mutación para el gen APO AIV (variante 347 T→S). Adaptado de Sánchez-Muniz (71).



Así pues los portadores del alelo C→T presentaban valores mayores de HDL-C cuando ingerían una dieta cuyo aporte graso era inferior al 30% del total energético; sin embargo, presentaban niveles más bajos de HDL-C cuando el aporte de grasas suponía más de un 30% de la energía (44). Los efectos se observaron fundamentalmente para dietas ricas en AGS y AGM, pero no para dietas ricas en AGP (44). Cuando se agruparon los AGS y AGM y se estudiaron en función de su origen, se encontró que la grasa animal era la que producía esta interacción significativa (44).

Gen APO A5: La apo A5 se encuentra unida a las HDL, pero se cree que es transferida a las VLDL y se ha relacionado con el metabolismo de los triglicéridos (74). Presenta 5 polimorfismos -1131T>C, -3>G, 56C>G, IVS3+476G>A, y 1259T>C, pero entre ellos cabe destacar -1131T>C y 56C>G por ser independientes. Lai et al. (45) estudiaron la posible interacción de estos dos polimorfismos independientes y la grasa de la dieta en los individuos del estudio Framingham. Obtuvieron una interacción AGP-polimorfismo -1131T>C para los niveles de triglicéridos en ayunas, partículas remanentes y el tamaño de las VLDL y LDL, pero no para el polimorfismo 56C>G (45). Además este efecto era dosis dependiente, es decir que aquellos individuos -1131C que tomaban más de un 6% de AGP en la dieta presentaban valores mayores de triglicéridos en ayunas y de partículas remanentes (45). Además en los individuos -1131C presentaban VLDL mayores y LDL menores conforme aumentaba el aporte de AGP (45). Por otro lado, se estudiaron por separado el efecto de los AGP- ω 3 y ω 6, se vio que la interacción gen-dieta ocurría sólo para los ω 6 (45).

Gen ADH. Los isoenzimas de la alcohol deshidrogenasa (ADH) son codificadas por el gen ADH1, ADH2, ADH3 y oxidan etanol y otros alcoholes (75). ADH2 y ADH3 tienen polimorfismos que producen isoenzimas con distintas propiedades cinéticas.

En la población caucasiana los polimorfismos de la ADH3 son comunes (40-50%). En el locus de la ADH3, el alelo γ 1 difiere del γ 2 en dos aminoácidos en las posiciones 271 y 349. Estudios farmacocinéticos muestran 2,5 veces mayor oxidación del etanol en los homocigotos γ 1 que en los homocigotos γ 2 (75).

Los resultados de Hines et al. (75) en hombres (396 pacientes y 770 controles) señalan que el consumo moderado de alcohol se asoció con una disminución del riesgo en los 3 grupos (γ 1 γ 1, γ 1 γ 2, γ 2 γ 2). No obstante los más beneficiados fueron los γ 2 γ 2 que consumían al menos 1 bebida/día y tuvieron un riesgo relativo de 0,14 respecto a los γ 1 γ 1 que bebía menos de 1 bebida/semana. Respecto a la HDL-C no se observaron diferencias entre los γ 1 γ 1, γ 1 γ 2, γ 2 γ 2 que bebían <1bebida/día, pero los portadores del alelo γ 2 que bebían >1 bebida/día tuvieron niveles más elevados de HDL-C que los γ 1 γ 1. Dado que la ADH metaboliza etanol y no otros compuestos minoritarios de las bebidas alcohólicas, debe aceptarse que las diferencias en la metabolización del etanol son responsables de las diferencias en el riesgo relativo.

GEN LFABP (proteína hepática de unión a ácidos grasos): Se estudió en más de 600 individuos canadienses la relación entre el polimorfismo T94A, los niveles de apoB y la ingesta de grasa en la dieta (76). Se vio, que cuando no se tenía en cuenta el efecto de la ingesta de grasa no existía relación entre el polimorfismo de LFABP y los niveles de apoB (76). Sin embargo, cuando se introducía el efecto de la grasa en el modelo, las concentraciones de apoB eran explicadas en parte por el polimorfismo (76). Cuando se ingiere una dieta rica en grasa los individuos homocigotos T94 tenían valores más altos de apoB que los portadores de A94 (76).

Gen PON1: La paraoxonasa (PON1) es un enzima que está unida a las HDL y se cree inhibe la oxidación de las LDL y de las HDL (77).

Presenta 3 actividades enzimáticas: paraoxonasa, arilesterasa y lactonasa, habiéndose relacionado bajos niveles de las dos primeras con un mayor riesgo de tener una ECV (77). El gen se localiza en el cromosoma 7 y posee dos polimorfismos en la región codificadora en la posición 55 por la sustitución de leucina (L) por metionina (M), y en la posición 192 por la sustitución de arginina (R) por glutamina (Q) (77).

Existen pocos estudios que se analizan la posible regulación genética de los polimorfismos de la PON1 sobre el efecto del consumo de un determinado alimento o dieta en humanos. Tomás et al. (78) en un estudio retrospectivo con 654 hombres, relacionaron que el alto consumo de ácido oleico estaba asociado con altos niveles de HDL-C y actividad paraoxonasa en los individuos portadores del alelo *PON1-192R*.

Bub et al. han estudiado el efecto de una dieta rica en zumo de tomate en hombres sanos ancianos (79) y jóvenes (80). A 50 ancianos sanos se les dividió en 2 grupos: la mitad bebían agua mineral y la otra mitad zumo de tomate. Se observó que a las 3 semanas de ingerir el zumo de tomate se reducía el grado de oxidación de las LDL en los individuos *PON1-192R* (79). El mismo efecto fue obtenido en los individuos jóvenes (80).

Rantala et al. (81) han analizado recientemente la interacción entre la dieta y los dos polimorfismos de la región codificadora de la PON1, el *PON1-L55M* y el *PON1-Q192R* es el de. Durante dos periodos experimentales de 5 semanas cada uno, 37 mujeres sanas recibieron una dieta rica en vegetales y otra dieta pobre en estos alimentos. Entre ambas hubo un periodo de lavado de 3 semanas. Tras la ingesta de la dieta rica en vegetales disminuyeron significativamente el CT y el transportado por las HDL y LDL, la Apo A1 y la actividad paraoxonasa (81).

Además, la disminución de la actividad paraoxonasa fue mayor en las mujeres que tenían la mayor actividad paraoxonasa basal portadoras del genotipo *PON1-192R* y *PON1-L55*.

Nuestro equipo de investigación estudió la posible interacción entre los polimorfismos *PON1-Q192R* y *L55M* y la ingesta de un cárnico funcional conteniendo nuez en 23 individuos con riesgo cardiovascular incrementado (82). Encontramos una interacción dieta-polimorfismo para los niveles de lipoperóxidos (LPO) y el polimorfismo *PON1-Q192R*, así como para la actividad arilesterasa y el polimorfismo *PON1-L55M* (42). Los niveles de LPO disminuyeron a las 5 semanas de ingerir el cárnico con nuez en los individuos *PON1-192R*, mientras la actividad arilesterasa disminuyó a las 5 semanas en los individuos *PON1-55M* (82) (Figura 4, página 140).

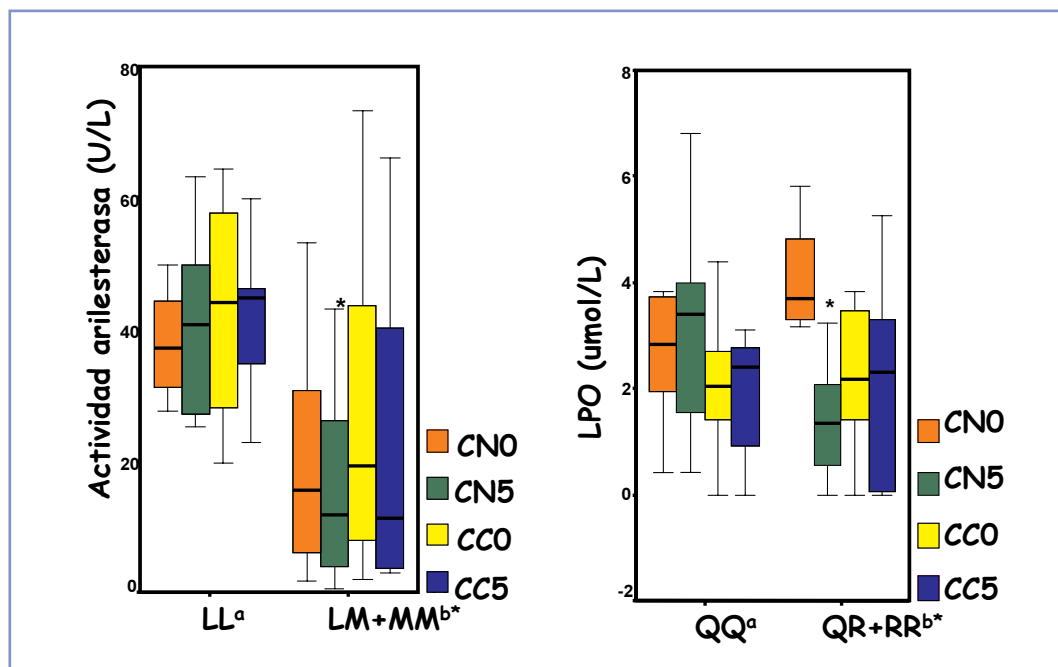
Gen MnSOD: El estrés oxidativo está relacionado con la patogénesis de la aterosclerosis, de tal forma que ciertos antioxidantes podrían mejorar la función endotelial en pacientes con riesgo incrementado, pero eso no ha sido corroborado en estudios puramente observacionales. Debido a esto, algunos estudios han investigado el papel de los enzimas antioxidantes. Entre ellos destaca la SOD, la cual cataliza la dismutación de radicales reactivos al anión superóxido a peróxido de hidrógeno. Se han definido 3 SOD en mamíferos: MnSOD en las mitocondrias, CuZnSOD en el citosol y SOD extracelular (83). Experimentos con animales *knockout* sugieren fuertemente que la MnSOD juega papel importante en la resistencia antioxidante de órganos vitales (83,84). Un polimorfismo de un solo aminoácido (Ala→Val) en la posición 16 a partir del origen de la secuencia señal o 9º aminoácido a partir del primer aminoácido de la proteína madura se ha sugerido cambia la estructura secundaria de la MnSOD y por tanto la “diana” mitocondrial del enzima.

FIGURA 4 | Interacción GEN PON-1 y consumo de cárnico con nueces en sujetos con factores de riesgo sobre la actividad arilesterasa y la concentración de lipoperóxidos (LPO).

Figura 4a. Influencia del polimorfismo PON1-L55M sobre la actividad arilesterasa después de 5 semanas con cárnico control (CC0→CC5) o cárnico con nueces (CN0→CN5).

Figura 4b. Influencia del polimorfismo PON1-Q192R sobre los lipoperóxidos (LPO) después de 5 semanas con cárnico control (CC0→CC5) o cárnico con nueces (CN0→CN5).

Adaptado de Nus y col. (82).



Los resultados en ratones utilizando precursores de MnSOD (proteínas quiméricas) señalan que los Ala generan 30-40% más de compuesto activo matricial que permite importar en la matriz más MnSOD (84). La sobreexpresión de MnSOD protege a los ratones transgénicos contra la isquemia miocárdica y revertir la disfunción endotelial en carótidas de conejos sin cambios ateroscleróticos (85).

Gotlieb et al. (83) estudiaron 252 sujetos (70 hombres y 182 mujeres, edades 54-85 años) y consideraron 82 individuos con alto nivel de LDLox (>0,5 nmol/mg apo) y 170 con bajos niveles (<0,5nmol/mg apo).

Los individuos fueron genotipados para polimorfismos de los genes APO E y MnSOD Ala16Val.

La comparación de frecuencias de polimorfismo de MnSOD entre los sujetos con alto LDL-ox respecto a los bajos LDL-ox mostró un incremento de los AA dentro del grupo LDLox elevado. Los niveles de LDLox en AV+VV fueron más altos. La distribución genotípica de APOE no difirió entre los individuos con LDL-ox elevado o bajo. El análisis multivariante mostró que la diabetes y el polimorfismo Ala16V fueron factores independientes asociados con altos niveles de LDLox.

Conclusiones

La variabilidad de respuesta a la dieta en los humanos y animales de experimentación se explica por la presencia de diferentes mutaciones en genes candidatos. El conocimiento de nuestro genoma y de la existencia de diferentes polimorfismos e interacciones entre los genes y el ambiente, permitirá aplicar en un futuro próximo con garantía de éxito dietas personalizadas para la prevención y el tratamiento de ECV.

Agradecimientos

Al profesor Ordovás por sus enseñanzas y estudios en el campo de la nutrición y la genética. Los autores agradecen además la financiación de los proyectos Lipton studies 1067 y 1234 "Genetics of response to phytosterol consumption" y los Proyectos del Plan Nacional AGL-2001-2398-C03-03 y AGL 2005- 07204-C02-01/ALI y la beca predoctoral de M. Nus.

Bibliografía

1. Comunidad Europea. Salud Pública. Ficha informativa sobre enfermedades crónicas: enfermedades cardiovasculares. [www.ec.europa.eu/health/ph information/dissemination/diseases/#information](http://www.ec.europa.eu/health/ph_information/dissemination/diseases/#information)
2. Instituto Nacional de Estadística. 2004. Defunciones según causa de muerte www.ine.es
3. Goldstein JL, Brown MS. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Ann Rev Biochem* 1977; 46: 897-930.
4. Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Eng J Med* 1999; 340: 115.
5. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE. Beyond cholesterol: Modifications of low density lipoproteins that increase its atherogenicity. *N Eng J Med* 1989; 320: 915-924.
6. Ordovás JM. La genética de la aterosclerosis. Ed. Doyma, Barcelona 1997.
7. Krauss RM, Eckel RH, Howard B, Appel LJ, Daniels SR, Deckelbaum RJ, Erdman JW, Kris Etherton P, Goldberg IJ, Kotchen TA, Lichenstein AH, Mitch WE, Mullis R, Robinson K, Wylie Rosset J, St Jeon S, Suttie J, Tribble DL, Bazzarre TL. AHA Dietary guidelines. Revision 2000: A statement for Healthcare professionals from the nutrition committee of the American Heart Association. *Circulation* 2000; 102: 2296-2311.
8. Carbajal A, Sánchez-Muniz FJ. Guía de prácticas. En: Nutrición y Dietética, García Arias MT y García Fernández MC (eds.). Universidad de León, León 2003. pp:35.
9. Sánchez-Muniz FJ, Varela P, Bastida S, González JM. Enfermedad cardiovascular, hipertensión arterial y dislipemias. En: Cuidados farmacológicos y nutricionales en el paciente en la edad avanzada (Carvajal A, Varela, P. Eds.). 2001.
10. Keys A. Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 1970;41:Suppl I.
11. Grundy SM. What is the desirable ratio of saturated, polyunsaturated, and monounsaturated fatty acids in the diet? *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 988-990.
12. Thomsen C, Rasmussen O, Christiansen C, Pedersen E, Vesterlund M, Storm H, Ingerslev J, Hermansen K. Comparison of the effects of a monounsaturated fat diet and a high carbohydrate diet on cardiovascular risk factors in first degree relative to type-2 diabetic subjects. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 818-823.
13. Sánchez-Muniz FJ, Bastida S, Quintana E, Merinero MC, Rodríguez-Gil S. Heterogeneous responsiveness of normolipemic women to n-3 long chain fatty acid supplementation. Changes in serum lipids and apoproteins. *J Physiol Biochem* 1997; 53: 349-354.
14. Sánchez-Muniz FJ, Bastida S. Nutrición y Lípidos. Biodisponibilidad de ácidos grasos. *Revista de Nutrición Práctica* 2000; 4: 48-64.
15. Sánchez-Muniz FJ, Bastida S. Ácidos grasos omega-3 y protección cardiovascular. Consideraciones sobre su consumo y recomendaciones para la población española. *Revista de Nutrición Práctica* 1997; 1: 123-138.
16. Hooper L, Thompson RL, Harrison RA, Summerbell CD, Ness AR, Moore HJ, Worthington HV, Durrington PN, Higgins JPT, Capps NE, Riemersma RA, Ebrahim SBJ, Smith GD. Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: a systematic review. *BMJ* 2006; 332: 752-755.
17. Bucher HC, Hengstler P, Schindler C, Meier G. N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta-analysis of randomized-controlled trials. *Am J Med* 2002; 112: 298-304.
18. Lorgier M, Salen P. Modified Cretan diet in the prevention of coronary heart disease and cancer. *Wrlrd Rev Nutr Diet* 2000; 87: 1-23.
19. Renaud S, De Lorgier M, Delaye J, Guidollet J, Jacquard F, Mamell Martin JL, Monjaud I, Salen P, Toubol P. Cretan Mediterranean diet for prevention of coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 1360-1367.
20. Mata P, Alonso R, Mata N. Los omega-3 y omega-9 en la enfermedad cardiovascular. En *El libro blanco de los omega-3*. Mataix J, Gil A (Eds.). Fundación Puleva. Granada, 2002: 49-64.

21. Sánchez-Muniz FJ. Metabolic and physiological effects of phytosterols consumption. En Bioavailability of micro-nutrients and minor dietary compounds. Vaquero MP, García-Arias T, Carbajal A, Sánchez-Muniz FJ (editores). Kerala, India. 2003; pp. 83-94.
22. Sánchez-Muniz FJ, Canales A, Librelotto J, Nus M. El consumo de fitosteroles, ¿un arma de doble filo? Grasas y aceites 2004; 55: 321-327.
23. Duff GW, Lobby P, Ordovás JM, Reilly PR. The future of living well to 100. Am J Clin Nutr 2006; 83: 488-490.
24. Jump DB, Clarke SD. Regulation of gene expression by dietary fat. Annu Rev Nutr 1999; 19: 63-90.
25. Worgall TS, Sturley SL, Seo T, Osborne TF, Deckelbaum RJ. Polyunsaturated fatty acids decrease expression of promoters with sterol regulatory elements by decreasing levels of mature sterol regulatory element-binding protein. J Biol Chem 1998; 273: 25537-25540.
26. Teran García M, Adamson AW, Yu G, Rufo C, Suchankova G, Dreesen TD, Tekle M, Clarke SD, Gettys TW. Polyunsaturated fatty acid suppression of fatty acid synthase (FASN): evidence for dietary modulation of NF-Y binding to the Fasn promoter by SREBP-1. J Biochem 2007; 402: 591-600.
27. Brown MS, Goldstein JL. A proteolytic pathway that controls the cholesterol content of membranes, cells, and blood. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96: 11041-11048.
28. Vasandani C, Kafrouni AI, Caronna A, Bashmakov Y, Gotthardt, Horton JD Spady DK. Upregulation of hepatic LDL transport by n-3 fatty acids in LDL receptor knockout mice. J Lipid Res 2002; 43: 772-784.
29. Sever N, Yang T, Brown MS, Goldstein JL, De Bose-Boyd RA. Accelerated degradation of HMG-CoA reductase mediated by binding of Insig-1 to its sterol-sensing domain. Mol Cell 2003; 11: 25-33.
30. Le Morvan V, Dumon MF, Palos-Pinto A, Be_rard AM. N-3 FA increase liver uptake of HDL cholesterol in mice. Lipids 2002; 37: 767: 772.
31. Edwards PA, Tabor D, Kast HR, Venkateswaran A. Regulation of gene expression by SREBP and SCAP. Biochim Biophys Acta 2000; 1529: 103-113.
32. Vamecq J, Latruffe N. Medical significance of peroxisome proliferator-activated receptors. Lancet 1999; 354: 141-148.
33. Ordovás JM. Ácidos grasos y otros componentes minoritarios de los aceites como reguladores de la expresión génica. En: Aceite de oliva virgen: nuestro patrimonio alimentario. Mataix J (Ed.). Universidad de Granada y Puleva Food, Granada 2001; pp: 249-259.
34. Nunn AVW, Bell J, Barter P. The integration of lipid-sensing and anti-inflammatory effects: how the PPARs play a role in metabolic balance. Nucl Recept 2007; 5: 1 (Disponible online).
35. Fruchart JC, Staels B, Duriez P. PPARs, metabolic disease and atherosclerosis. Pharmacol Res 2001; 44: 345-352.
36. de Roos B, Castake MJ, Stalenhoef AF et al. The coffee diterpene cafestol increases plasma triacylglycerol by increasing the production rate of large VLDL apolipoprotein B in healthy normolipidemic subjects. Am J Clin Nutr 2001; 73: 45-52.
37. Malmstrom R, Packard CJ, Watson TD et al. Metabolic basis of hypotriglyceridemic effects of insulin in normal men. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997; 17: 1456-1464.
38. Rustan AC, Halvorsen B, Huggett AC, Drevon CA. Effect of a coffee lipids (cafestol and kahweol) on regulation of cholesterol metabolism in HEPG2 cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997; 17: 2140-2149.
39. Dietschy JM. Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. J. Nutr 1998; 128: 444-448.
40. Miles EA, Calder PC. Modulation of immune function by dietary fatty acids. Proc Nutr Soc 1998; 57: 277-292.
41. Low YL, Tai ES. Understanding diet-gene interactions: Lessons from studying nutrigenomics and cardiovascular disease. Mut Res 2007; 622: 7-13.
42. Ordovás JM. Nutrigenetics, plasma lipids, and cardiovascular risk. J Am Diet Assoc 2006; 106: 1074-1081.
43. Ordovás JM, Corella D, Cupples LA, Demissie S, Kelleher A, Coltell O, Wilson PW, Schaefer EJ, Tucker K. Polyunsaturated fatty acids modulate the effects of the apoA1 G-A polymorphism on HDL-cholesterol concentrations in a sex-specific manner: the Framingham Study. Am J Clin Nutr 2002; 75: 38-46.
44. Ordovás JM, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Couture P, Coltell O, Wilson PW, Schaefer EJ, Tucker KL. Dietary fat intakes determines the effect of a common polymorphism in the hepatic lipase gene promoter on high-density lipoprotein metabolism: evidence of a strong dose effect in this gene-nutrient interaction in the Framingham Study. Circulation 2002; 106: 2315-2321.
45. Lai CQ, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Adiconis X, Zhu Y, Parnell LD, Tucker KL, Ordovás JM. Dietary intake of n-6 fatty acids modulates effect of apolipoprotein A5 gene on plasma fasting triglycerides, remnant lipoprotein concentrations and lipoprotein particle size: the Framingham Heart Study. Circulation 2006; 113: 2062-2070.

46. Tai ES, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Coltell O, Schaefer EJ, Tucker KL, Ordovás JM. Polyunsaturated fatty acids interact with the PPARA-L162V polymorphism to affect plasma triglyceride and apolipoprotein C-III concentrations in the Framingham Heart Study. *J Nutr* 2005; 135: 397-403.
47. Fitó M, Guxens M, Corella D, Sáez G, Estruch R, de la Torre R, Francés F, Cabezas C, López-Sabater MC, Marrugat J, García-Arellano A, Aros F, Ruiz-Gutierrez V, Ros E, Salas-Salvadó J, Fiol M, Solà R, Covas MI, for the PREDIMED Study. Investigators. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2007; 167: 1195-1203.
48. Vincent S, Gerber M, Bernard MC, Defoort C, Loundou A, Portugal H, Planells R, Juhan-Vague I, Charpiot P, Grolier P, Amiot-Carlin MJ, Vague P, Lairon D. The Medi-RIVAGE study (Mediterranean Diet, Cardiovascular Risks and Gene Polymorphisms): rationale, recruitment, design, dietary intervention and baseline characteristics of participants. *Public Health Nutr* 2004; 7: 531-542.
49. Xu CF, Angelico F, Del Ben M, Pannozzo F, Mazzarella B, Miller NE, Humphries SE, Talmud PJ. Polymorphism at the apolipoprotein loci and response of plasma lipids to dietary change in Italian children. *NMCD* 1992; 2: 26-32.
50. López-Miranda J, Ordovás JM, Espino A, Marin C, Salas J, López-Segura F, Jiménez-Pereperez J, Perez-Jimenez F. Influence of mutation in human apolipoprotein A-1 gene promoter on plasma LDL cholesterol response to dietary fat. *Lancet*. 1994; 343: 1246-9.
51. Carmena Ramón RF, Ordovás JM, Ascaso JF, Real J, Priego MA, Carmena R. Influence of genetic variation at the apo A-I gene locus on lipid levels and response to diet in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 1998; 139: 107-13.
52. Mata P, López-Miranda J, Pocoví M, Alonso R, Lahoz R, Marin C, Garcés C, Cenarro A, Pérez-Jiménez F, de Oya M, Ordovás JM. Human apolipoprotein A-I gene promoter mutation influences plasma low density lipoprotein cholesterol response to dietary fat saturation. *Atherosclerosis* 1998; 137: 367-376.
53. Tikkanen MJ, Huttunen JK, Enholm C, Pietinen P. Apolipoprotein E4 homozygosity predisposes to serum cholesterol elevation during high fat diet. *Arteriosclerosis* 1990; 10: 285-8.
54. Savolainen MJ, Rantala M, Kervinen K, Jarvi L, Suvanto K, Rantala T, Kesaniemi YA. Magnitude of dietary effects on plasma cholesterol concentration: role of sex and apolipoprotein E phenotype. *Atherosclerosis* 1991; 86: 145-52.
55. Mänttari M, Koskinen P, Ehnholm C, Huttunen JK, Manninen V. Apolipoprotein E polymorphism influences the serum cholesterol response to dietary intervention. *Metabolism*. 1991; 40: 217-221.
56. López-Miranda J, Ordovás JM, Mata P, Lichtenstein AH, Clevidence B, Judd JT, Schaefer Effect of apolipoprotein E phenotype on diet-induced lowering of plasma low density lipoprotein cholesterol. *EJ. J Lipid Res*. 1994; 35: 1965-75.
57. Dreon DM, Fernstrom HA, Miller B, Krauss RM. Apolipoprotein E isoform phenotype and LDL subclass response to a reduced-fat diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 105-11.
58. Clifton PM, Abbey M, Noakes M, Beltrame S, Rumbelow N, Nestel PJ. Body fat distribution is a determinant of the high-density lipoprotein response to dietary fat and cholesterol in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1070-1078.
59. Zambon D, Ros E, Casals E, Sanllehy C, Bertomeu A, Campero I. Effect of apolipoprotein E polymorphism on the serum lipid response to a hypolipidemic diet rich in monounsaturated fatty acids in patients with hypercholesterolemia and combined hyperlipidemia. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 141-148.
60. Lefevre M, Ginsberg HN, Kris-Etherton PM, Elmer PJ, Stewart PW, Ershow A, Pearson TA, Roheim PS, Ramakrishnan R, Derr J, Gordon DJ, Reed R. ApoE genotype does not predict lipid response to changes in dietary saturated fatty acids in a heterogeneous normolipidemic population. The DELTA Research Group. Dietary Effects on Lipoproteins and Thrombogenic Activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997; 17: 2914-23.
61. Pasagian-Macaulay A, Aston CE, Ferrell RE, McAllister AE, Wing RR, Kuller LH. A dietary and behavioral intervention designed to lower coronary heart disease. Risk factors are unaffected by variation at the APOE gene locus. *Atherosclerosis* 1997; 132: 221-7.
62. Dixon LB, Shannon BM, Tershakovec AM, Bennett MJ, Coates PM, Cortner JA. Effects of family history of heart disease, apolipoprotein E phenotype, and lipoprotein(a) on the response of children's plasma lipids to change in dietary lipids. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 1207-17.
63. Loktionov A, Bingham SA, Vorster H, Jerling JC, Runswick SA, Cummings JH. Apolipoprotein E genotype modulates the effect of black tea drinking on blood lipids and blood coagulation factors: a pilot study. *Br J Nutr* 1998; 79: 133-9.
64. Weggemans RM, Zock PL, Ordovás JM, Pedro-Botet J, Katan MB. Apoprotein E genotype and the response of serum cholesterol to dietary fat, cholesterol and cafestol. *Atherosclerosis* 2001; 154: 547-55.

65. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L; INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004; 364: 937-952.
66. Ordovás JM. The genetics of serum lipid responsiveness to dietary interventions. *Proc Nutr Soc* 1999; 17: 1-187.
67. Mata P, Ordovás JM, López-Miranda J, Lichtenstein AH, Clevidence B, Judo JT, Schaefer EJ. Apo AIV phenotype affects diet induced plasma LDL-cholesterol lowering. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 884-891.
68. Jansen S, López-Miranda J, Ordovás JM, Zambrana JL, Marin C, Ostos MA, Castro P, McPherson R, López-Segura F, Blanco A, Jiménez-Pérez JA, Pérez-Jiménez F. Effect of 360His mutation in apolipoprotein A-IV on plasma HDL-cholesterol response to dietary fat. *J Lipid Res* 1997; 38: 1995-2002.
69. Jansen S, López-Miranda J, Salas J, Ordovás JM, Castro P, Marin C, Ostos MA, López-Segura F, Jiménez-Pérez JA, Blanco A, Pérez-Jiménez F. Effect of 347-serine mutation in apoprotein A-IV on plasma LDL cholesterol response to dietary fat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1532-1538.
70. Chan YM, Varady KA, Lin Y, Trautwein E, Mensink RP, Plat J, Jones PJH. Plasma concentrations of plant sterols: physiology and relationship with coronary heart disease. *Nutr Rev* 2006; 64: 385-402.
71. Sánchez-Muniz FJ, Schaefer EJ, Ordovás JM. Interacción del polimorfismo del gen de la apolipoproteína AIV 347 sobre los efectos hipolipemiantes de los fitosteroles en pacientes hipercolesterolémicos. *Nutr Hosp* 2005; 1: 112.
72. Barter PJ. Hugh Sinclair Lecture: The regulation and remodelling of HDL by plasma factors. *Atherosclerosis Suppl* 2002; 3: 39-47.
73. Couture P, Otvos JD, Cupples LA. Association of the C-514T polymorphism in the hepatic lipase gene with variations in lipoprotein subclass profiles. The Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 815-822.
74. Fruchart Najib J, Bauge E, Niculescu LS, Pham T, Thomas B, Rommens C, Majd Z, Brewer B, Pennachio LA, Fruchart JC.
75. Hines LM, Stampfer MJ, Ma J, Gaziano M, Ridker PM, Hankinson SE, Sacks F, Rimm EB, Hunter DJ. Genetic variation in alcohol dehydrogenase and the beneficial effect of moderate alcohol consumption on myocardial infarction. *N Eng J Med* 2001; 344: 549-555.
76. Robitaille J, Brouillette C, Lemieux S, Perusse L, Gaudet D, Vohl MC. Plasma concentrations of apolipoprotein B are modulated by a gene-diet interaction effect between the LFAFP T94A polymorphism and dietary fat intake in French-Canadian men. *Mol Genet Metab* 2004; 82: 296-303.
77. Nus M, Sánchez-Muniz FJ, Sánchez-Montero JM. La arilesterasa, aspectos metodológicos y funcionales de un enzima clave en la enfermedad cardiovascular. Parte I y II. *Anales de la Real Academia de Farmacia* 2007.
78. Tomás M, Senti M, Elosua R, Vila J, Sala J, Masiá R, Marrugat J. Interaction between the Gln-Arg 192 variants of the paraoxonase gene and oleic acid intake as a determinant of high-density lipoprotein cholesterol and paraoxonase activity. *Eur J Pharmacol* 2001; 432: 121-128.
79. Bub A, Barth S, Watzl B, Briviba K, Herbert BM, Luhrmann PM, Neuhauser-Berthold M, Rechkemmer G. Paraoxonase 1 Q192R (PON1-192) polymorphism is associated with reduced lipid peroxidation in R allele-carrier but not in QQ homozygous elderly subjects on a tomato-rich diet. *Eur J Nutr* 2002; 41: 237-243.
80. Bub A, Barth S, Watzl B, Briviba K, Rechkemmer G. Paraoxonase 1 Q192R (PON1-192) polymorphism is associated with reduced lipid peroxidation in healthy young men on a low-carotenoid diet supplemented with tomato-juice. *Br J Nutr* 2005; 93: 291-297.
81. Rantala M, Silaste MJ, Tuominen A, Kaikkonen J, Salonen JT, Alfthan G, Aro A, Kesaniemi YA. Dietary modifications and gene polymorphisms alter serum paraoxonase activity in healthy women. *J Nutr* 2002; 132: 3012-3017.
82. Nus M, Frances F, Librelotto J, Canales A, Corella D, Sánchez-Montero JM, Sánchez-Muniz FJ. Arylesterase activity depends on both PON1-192 and PON1-55 in subjects at increased cardiovascular disease consuming a walnut-enriched meat. *J Nutr* 2007; 137: 1783-88.
83. Gottlieb MG, Schwanke CHA, Santos AFR, Jobin PF, Müssel DP, da Cruz IBM. Association among oxidized LDL levels, MNSOD, apolipoprotein E polymorphisms, and cardiovascular risk factors in a south Brazilian region population. *Gen Mol Res* 2005; 4: 691-703.
84. Sutton A, Khoury H, Prip-Buus C, Cepanec C. The Ala16Val genetic dimorphism modulates the import of human manganese superoxide dismutase into rat liver mitochondria. *Pharmacogenetics* 2003; 13: 145-157.
85. Zanetti M, Sato J, Jost CJ, Gloviczki P. Gene transfer of manganese superoxide dismutase reverses vascular dysfunction in the absence but not in the presence of atherosclerotic plaque. *Hum Gene Ther* 2001; 12: 1407-1416.

The background of the slide is a light blue and white abstract design. It features a prominent DNA double helix structure on the right side, with several dark blue circles scattered across the left and center. Thin, intersecting lines create a geometric pattern in the upper left quadrant.

Capítulo 8

Metabolismo del tejido adiposo
y sensibilidad insulínica
en la gestación

Capítulo 8

Metabolismo del tejido adiposo y sensibilidad insulínica en la gestación

Emilio Herrera

Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Celular.
Facultades de Farmacia y Medicina. Universidad San Pablo-CEU. Madrid

Resumen

Durante la primera mitad de la gestación la madre acumula grasas, que juegan un papel importante en la segunda mitad, en la que se produce un acelerado catabolismo que contribuye activamente a sustentar el rápido crecimiento del feto. Un aumento en la sensibilidad a la insulina durante la primera mitad de la gestación y una resistencia insulínica durante la segunda mitad son responsables de esos cambios que tienen lugar en el metabolismo del tejido adiposo materno a lo largo de la gestación. La resistencia a la insulina al final de la gestación está mediada por una disminuida fosforilación en residuos de tirosina de las proteínas IR, IRS-1, Akt y ERK 1/2 de la cascada de señalización a la hormona y por una aumentada fosforilación en serina del IRS-1. Durante la gestación, el tejido adiposo de la madre juega un papel importante como reserva de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) derivados de la dieta. Gracias a la activa lipólisis del tejido adiposo, estos PUFA llegan a ser accesibles al feto incluso en periodos en los que la ingesta se encuentra disminuida. La malnutrición de la madre durante la primera mitad de la gestación impide el acúmulo de sus grasas corporales y compromete el normal desarrollo del feto,

con consecuencias en el adulto, que se manifiestan con una acelerada resistencia a la insulina con la edad, que predispone al desarrollo de diabetes.

Introducción

El aumento de la masa del tejido adiposo es una característica de la gestación normal, lo cual se ha observado en la mujer (1) y en la rata (2), y corresponde preferentemente a un aumento en el tamaño de los adipocitos más que a la hiperplasia del tejido adiposo (3). Este efecto tiene lugar principalmente durante la primera mitad de la gestación (2), en que el incremento del peso del embrión o del feto es escaso, por lo que el exceso de nutrientes derivados de la hiperfagia materna se dirige preferentemente al acúmulo de grasas de depósito en los tejidos maternos. Sin embargo, en el último tercio de la gestación, en que el ritmo de crecimiento del feto es máximo, los depósitos grasos de la madre no continúan acumulándose, sino que incluso tienden a disminuir (2). Este cambio bifásico de los depósitos grasos a lo largo de la gestación juega una importante función en la nutrición fetal, ya que cuando no se produce, como ocurre en condiciones de malnutrición de la madre (4) o por alteraciones endocrinas (5), el crecimiento del feto es menor.

Por tanto, es importante analizar los cambios que ocurren en el metabolismo de la madre y los factores que lo controlan, entre los que cabe destacar a la insulina. De hecho, la insulina es la hormona más activa controlando el metabolismo del tejido adiposo, y a lo largo de la gestación se producen cambios tanto en su concentración como en su sensibilidad.

Cambios metabólicos en tejido adiposo y respuesta a la insulina

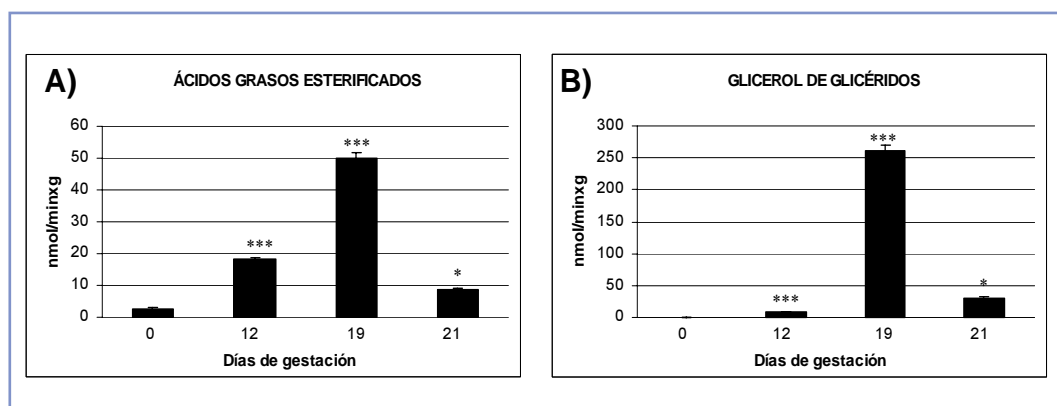
Lipogénesis y glicerogénesis

La glucosa es el principal sustrato que utiliza el tejido adiposo para la síntesis de ácidos grasos (lipogénesis) y del glicerol de los glicéridos (glicerogénesis). Las formas activas de los ácidos grasos y del glicerol, los acil-CoA y el glicerol 3-fosfato, se esterifican para la síntesis de los triacilgliceroles (TG), también denominados triglicéridos. Los TG constituyen más del 90% de los lípidos acumulados en el tejido adiposo. Como se muestra en la Figura 1, en tejido adiposo de la rata "in situ", la conversión de glucosa en ácidos grasos esterificados y en glicerol de glicéridos en tejido adiposo aumenta enormemente

en mitad de la gestación, para disminuir en su última etapa, aunque incluso poco antes del parto, el cual tiene lugar al día 21.5, estas dos vías metabólicas siguen produciéndose a mayor actividad que en las ratas no-gestantes (Figura 1).

Tanto la lipogénesis como la glicerogénesis a partir de glucosa en tejido adiposo son activadas por insulina, de forma que los cambios en la sensibilidad de la insulina que tienen lugar a lo largo de la gestación, pueden afectar de forma importante a estas vías. De hecho, nosotros hemos observado previamente que de una forma dependiente de la dosis, en adipocitos de ratas en los primeros días de la gestación (día 7), la insulina estimula la síntesis de ácidos grasos y de glicerol de glicéridos con mayor intensidad que en los de ratas no-gestantes (6). Sin embargo, cuando se trata de adipocitos procedentes de ratas de 20 días de gestación, el efecto de la insulina es significativamente menor que en las ratas no-gestantes (6). Así pues, se produce un aumento de la respuesta a la insulina durante la primera fase de la gestación, mientras que hay una clara resistencia a la hormona en el último tercio de la gestación.

FIGURA 1 | Síntesis de ácidos grasos esterificados (A) y de glicerol de glicéridos (B) a partir de glucosa por tejido adiposo periuterino "in situ" de rata a distintos días de gestación. Detalles metodológicos descritos en la ref. (25).



Actividad lipoproteína lipasa

Los TG plasmáticos que se encuentran asociados a lipoproteínas ricas en ellos (las lipoproteínas de muy baja densidad, VLDL, y los quilomicrones) constituyen también una fuente importante de TG en el tejido adiposo. Ello ocurre gracias a la actividad lipoproteína lipasa (LPL) presente en el endotelio de los capilares sanguíneos, que hidroliza a esos TG circulantes, y los productos correspondientes, ácidos grasos libres (FFA) y glicerol, son captados por el tejido para su posterior conversión en sus formas activas y subsecuente re-esterificación en la síntesis de TG. La utilización de esta vía para los FFA ha sido reconocida ampliamente en tejido adiposo. Sin embargo, desde hace años se conoce que en este tejido, aunque existe la capacidad de fosforilar directamente el glicerol por la acción catalítica de la glicerol-quinasa, la actividad de esta enzima es muy baja (7), por lo que su eficacia para convertir el glicerol en glicerol-3 fosfato se considera prácticamente inapreciable (8). No obstante, nosotros hemos demostrado recientemente que el tejido adiposo de la rata gestante de 7 días tiene una aumentada capacidad de utilizar glicerol para la síntesis de glicerol de glicéridos con relación al de la rata no-gestante, y que la insulina tiene un efecto mucho más intenso sobre esta vía metabólica en la rata gestante de 7 días que en la no-gestante (Ramos, P., del Campo, S. y Herrera, E., observaciones sin publicar). Por otro lado, la actividad LPL en tejido adiposo es mayor en la rata durante la primera mitad de la gestación que en la rata no-preñada, mientras que al final de la gestación la actividad de esta enzima se encuentra significativamente disminuida con relación a la situación de no-gestación (9). A su vez, hemos demostrado también que esa disminuida actividad LPL en tejido adiposo de la rata al final de la gestación se produce como resultado de la menor respuesta del tejido a la insulina (10). Así pues, mientras que la hidrólisis y utilización de los TG circulantes por el tejido adiposo está aumentada en la primera mitad de la gestación,

contribuyendo al mayor depósito de TG en el tejido, la situación se revierte en la última fase de la gestación, y estos cambios se encuentran modulados por las variaciones en la respuesta del tejido a la insulina, que va desde un incremento durante la primera mitad de la gestación hasta una resistencia insulínica en el último tercio de la gestación.

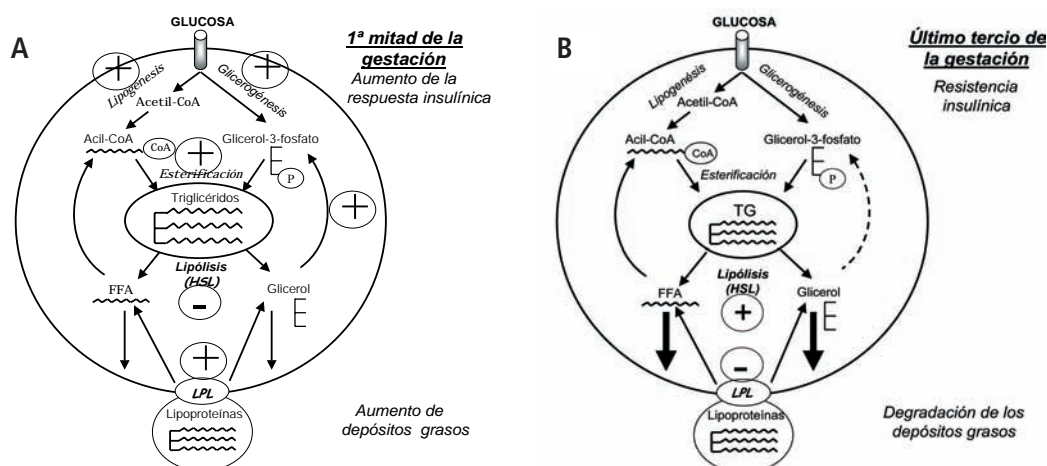
Actividad lipolítica

De forma opuesta a la lipogénesis, glicero-génesis y actividad LPL, la hidrólisis de los TG intracelulares (lipólisis), catalizada por la lipasa sensible a las hormonas (HSL), constituye la principal vía de degradación de dichos TG, con la formación de FFA y glicerol, que salen a la circulación. Hace años que conocemos que esta vía se encuentra aumentada en la rata gestante durante la última fase de la gestación, con relación a la no-gestante (3). Mas recientemente hemos determinado de qué forma se produce la respuesta de esta vía metabólica a la insulina (6). Hemos observado que en adipocitos de ratas de 7 días de gestación, a los que se les estimulaba la lipólisis con un agente β -bloqueante adrenérgico (isoproterenol), se produce un incremento de la respuesta antilipolítica a la insulina. Sin embargo, cuando el mismo experimento se realiza en adipocitos de ratas de 20 días de gestación, la respuesta a la insulina es incluso inferior que la observada en adipocitos de ratas no-gestantes (6).

Recopilación de los cambios que tienen lugar en el metabolismo del tejido adiposo a lo largo de la gestación

Así pues, como se muestra en la Figura 2A-Página 150, durante la primera mitad de la gestación, gracias precisamente al aumento en la sensibilidad a la insulina, tiene lugar un aumento en la utilización de glucosa para la síntesis de acil-CoA y glicerol-3-fosfato, y consecuentemente de la esterificación de estos compuestos en la síntesis de TG.

FIGURA 2 | Resumen de los cambios que tienen lugar en las distintas vías del metabolismo del tejido adiposo en la primera mitad de la gestación (A), inducidos preferentemente por una aumentada sensibilidad a la insulina, y en el último tercio de la gestación (B), inducidos por la resistencia insulínica. Todo ello da lugar a una situación anabólica en la primera mitad, que se manifiesta por un aumento neto del acúmulo de reservas grasas, y una situación catabólica en el último tercio, con una acelerada degradación de esas reservas. Signos (+) y (-) indican vía o reacción aumentada y disminuida, respectivamente.



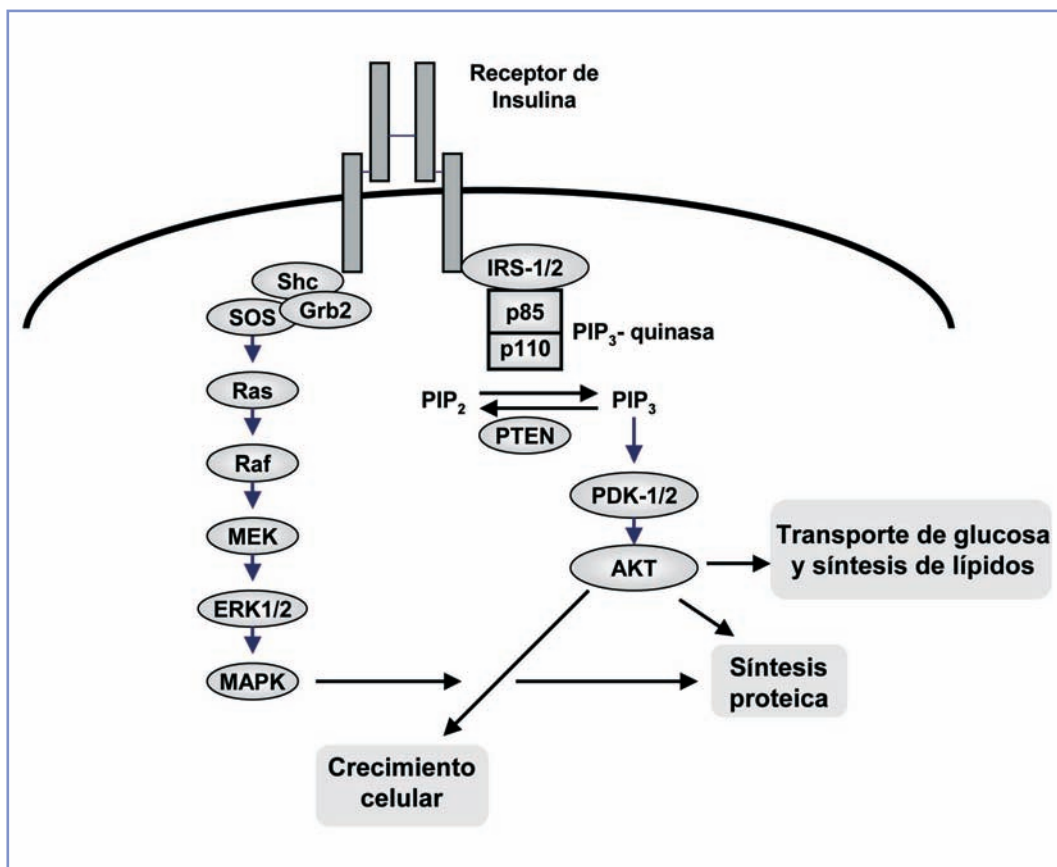
A su vez, la acción antilipolítica de la insulina permite una menor degradación de los TG endógenos, mientras que la mayor actividad de la LPL y la inducción de la glicerol-quinasa producida por la respuesta a la insulina, contribuyen a la aumentada llegada al tejido de los productos de la hidrólisis de los TG circulantes y su incorporación a los TG endógenos. Todo ello justifica el aumento neto de los depósitos grasos de la madre.

Sin embargo, como se muestra en la Figura 2B, durante la última fase de la gestación, la resistencia insulínica hace que disminuya la utilización de glucosa para la lipogénesis y la glicerogénesis. A su vez, disminuye la actividad LPL y la subsiguiente captación de los productos de la hidrólisis de los TG circulantes, lo que unido a la más activa lipólisis hace que el balance neto sea un aumentado catabolismo de los depósitos grasos, lo cual justifica el menor acúmulo de depósitos grasos en la madre y el aumento de los niveles en sangre de los productos de la lipólisis en sangre, FFA y glicerol (11).

Cambios en la cascada de señalización de la insulina

Recientemente nos ha interesado estudiar el mecanismo molecular por el que se produce la resistencia insulínica del tejido adiposo en el último tercio de la gestación, responsable de la situación catabólica del tejido. Para ello, mediante análisis de Western blots, hemos determinado la concentración de una serie de proteínas que forman parte de etapas clave de la cascada de señalización de la insulina (Figura 3): el receptor de insulina (IR), el sustrato del receptor de insulina (IRS-1), la fosfatidil-inositol 3 quinasa (PI3K), la proteína quinasa-1 dependiente del 3 fosfoinositol (PDK-1), la fosfatasa y homólogo de tensina de delección del cromosoma 10 (PTEN), y una quinasa de regulación extracelular (ERK 1/2). Al medir cualquiera de estas proteínas no observamos ningún cambio en el tejido adiposo de ratas preñadas al día 20 de gestación con relación al de ratas no-preñadas (12).

FIGURA 3 | Esquema de la cascada de señalización de la insulina. La unión de la insulina a su receptor da lugar a una autofosforilación de las subunidades β del mismo y la fosforilación en residuos de tirosina de los substratos del receptor de insulina (IRS) y de otras proteínas, como la Shc. Las formas fosforiladas del IRS desencadenan a su vez la fosforilación de otras proteínas que actúan como segundos mensajeros, que terminan produciendo los efectos característicos de la insulina, tales como la estimulación del transporte de glucosa y síntesis de lípidos, de la síntesis de proteínas o del crecimiento celular. Los nombres desarrollados de algunas de esas proteínas se especifican en el texto.



Sin embargo, cuando medimos la fosforilación de residuos de tirosina estimulada por la insulina del IR o el IRS-1, encontramos que era mucho menor en el tejido de las ratas preñadas que en el de las no-preñadas, lo cual era coincidente con una menor capacidad de fosforilación de las proteínas Akt/PKB y de la ERK1/2 en el tejido de ratas preñadas de 20 días (12).

A su vez, otros autores han puesto de manifiesto que la fosforilación en residuos de serina del IRS-1 reduce su capacidad para unirse a la quinasa PI3, disminuyendo su activación (13). De hecho, se ha propuesto que éste sea un mecanismo de desencadenar resistencia a la insulina en diversas condiciones tales como la obesidad, el hiperinsulinismo, un incremento del $\text{TNF}\alpha$, o incluso la hiperlipidemia, entre otras (14, 15).

Por ello, nosotros hemos medido también el nivel de IRS-1 fosforilado en serina del tejido adiposo, observando que estaba aumentado en ratas preñadas de 20 días con relación a ratas no-preñadas (12).

Así pues, una reducida capacidad fosforilante de las proteínas IR, IRS-1, Akt y ERK 1/2 en respuesta a la insulina y un aumento de la fosforilación en serina del IRS-1, sin cambios en la cantidad de proteínas de la cascada de señalización de la insulina, parecen ser los principales factores responsables de la resistencia insulínica del tejido adiposo en la última parte de la gestación.

Beneficios para el feto

Es lógico pensar que estos cambios que tienen lugar en la funcionalidad del tejido adiposo a lo largo de la gestación supongan un beneficio para el feto. Analicemos en primer lugar el destino de los productos de la lipólisis, FFA y glicerol, los cuales están aumentados en el último tercio de la gestación, y particularmente en condiciones de ayuno (16). Sin embargo, en comparación con otros metabolitos, como la glucosa o los aminoácidos, estos compuestos cruzan con dificultad la placenta (17), por lo que su principal destino es el hígado materno. Ahí, después de pasar a sus respectivas formas activas, acil-CoA y glicerol-3-fosfato, en el caso de los FFA son utilizados preferentemente en la síntesis de cuerpos cetónicos, mientras que el glicerol es utilizado como sustrato preferente en la gluconeogénesis (17). Los cuerpos cetónicos cruzan fácilmente la placenta, y alcanzan en la circulación fetal los mismos niveles que en el plasma materno (11). El feto utiliza los cuerpos cetónicos no sólo como sustratos oxidativos sino también para la síntesis de lípidos en tejido nervioso, por lo que constituyen unos sustratos alternativos a la glucosa en situaciones en que los niveles de ésta pueden ser limitados.

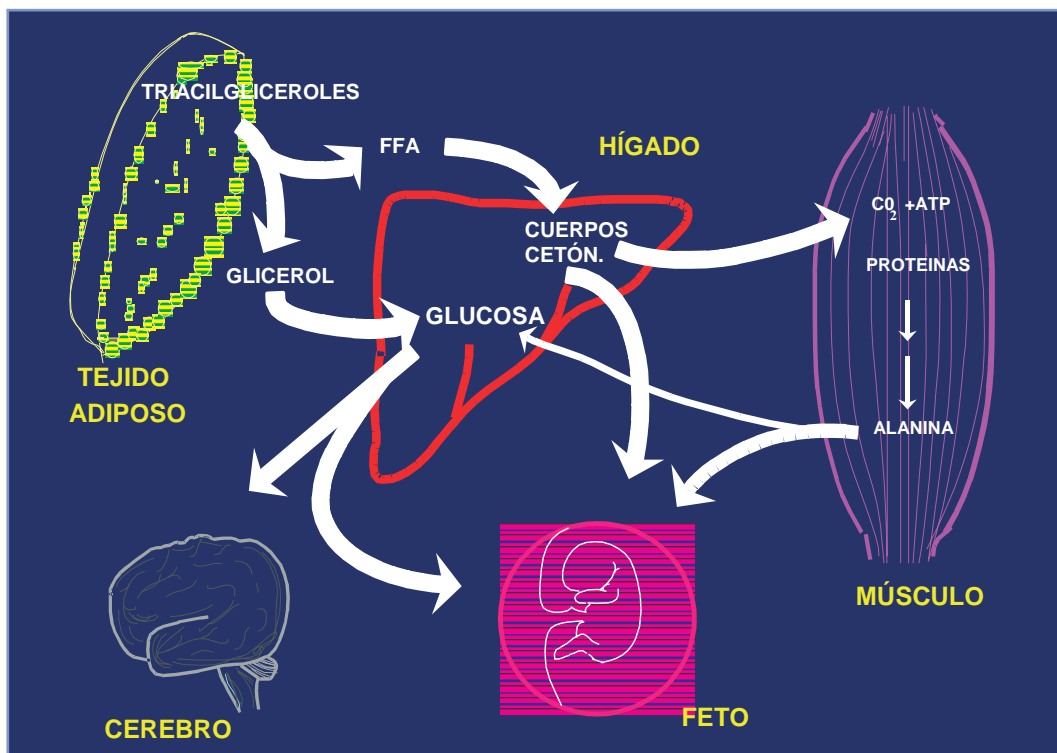
En el caso de la glucosa, que es el sustrato oxidativo preferente en el feto, la utilización preferente de glicerol para la síntesis de glucosa en el hígado materno constituye una vía esencial para el feto. Además, implica un ahorro del consumo de otros sustratos gluconeogénicos, como es el caso de los aminoácidos, que son también esenciales para el feto. En la Figura 4 se resumen estas interrelaciones metabólicas que tienen lugar en el último tercio de la gestación, particularmente en los periodos de ayuno, donde se pone de manifiesto el papel del tejido adiposo como fuente de sustratos para la síntesis hepática de glucosa y cuerpos cetónicos, que son canalizados hacia el feto. El proceso permite el ahorro de aminoácidos derivados del catabolismo proteico en el músculo, para su transferencia al feto, y garantiza también el adecuado aporte de glucosa a los tejidos maternos que la utilizan como sustrato fundamental, como es el caso del tejido nervioso.

Otro beneficio que puede representar para el feto el aumento de los productos de la lipólisis del tejido adiposo es la disponibilidad de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA). Aunque los ácidos grasos esenciales en la dieta del adulto son el ácido linoleico (18:3, n-6) y el α -linolénico (18:2, n-2), el feto necesita para su normal desarrollo también de los LCPUFA de cadena más larga, en particular de los ácidos docosahexaenoico (22:6, ω 3, DHA) y araquidónico (20:4 ω 6, AA), ya que carece de suficiente actividad de las desaturasas y elongasas necesarias para llevar a cabo eficazmente la síntesis de estos ácidos grasos a partir de los esenciales. Ello hace que prácticamente todos los ácidos grasos poliinsaturados (esenciales y LCPUFA) del feto deban proceder de la madre, y en su mayor parte de los derivados de la dieta de ésta. De hecho, la proporción de los LCPUFA más importantes para el feto, DHA y AA, llega a ser más alta en plasma fetal que en plasma materno, lo cual pone de manifiesto su eficaz transferencia placentaria (18).

Mediante estudios en la rata, nosotros hemos demostrado que durante la gestación, el tejido adiposo de la madre acumula los ácidos grasos esenciales y LCPUFA de forma proporcional a los de su dieta (19). A su vez, hemos observado que en condiciones de ayuno, es decir, cuando no hay aporte exógeno de ácidos grasos, la concentración de estos ácidos grasos aumenta tanto en la circulación materna como en la circulación fetal

(Amusquivar, E, López-Soldado, I, Ortega, H, and Herrera, E, observaciones sin publicar). Estos resultados permiten concluir que la activa lipólisis del tejido adiposo de la madre en la última parte de la gestación, hace que se garantice la disponibilidad de esos LCPUFA para su transferencia al feto, incluso en situaciones en que no hay fuente de ellos de la dieta, como es el caso de los periodos de ayuno.

FIGURA 4 | Esquema de las principales interrelaciones metabólicas que tienen lugar en el último tercio de la gestación durante los periodos de ayuno. Se muestra el papel fundamental que desempeña la movilización de los depósitos grasos de la madre, que se habían acumulado en etapas anteriores de la gestación, como fuente de sustratos para el aporte de metabolitos esenciales para el feto, tales como la glucosa y los aminoácidos. De igual forma, la aumentada gluconeogénesis en el hígado materno garantiza también el adecuado aporte de glucosa a los tejidos maternos que son dependientes de ella, como es el caso del cerebro. A su vez, la mayor producción de cuerpos cetónicos permite el consumo de estos compuestos por aquellos tejidos maternos que pueden utilizarlos en sustitución de la glucosa, como es el caso del músculo, así como su llegada al feto, como sustratos alternativos cuando la llegada de glucosa no es suficiente.



Consecuencias a largo plazo en las crías cuando la madre no puede acumular depósitos grasos en la primea mitad de la gestación

Mediante estudios epidemiológicos se ha llegado a la conclusión de que el bajo peso al nacer debido a una malnutrición durante la etapa intrauterina, es un riesgo de padecer determinadas patologías de adulto, como es el caso de la hipertensión, enfermedades cardiovasculares, obesidad y/o la diabetes (20, 21). A través de trabajos de intervención en la rata se conoce que esa malnutrición intrauterina se produce no sólo cuando hay una deficiencia en la ingesta de la madre, sino también cuando hay una descompensación de los componentes de la dieta, como es el caso de una deficiencia proteica (22) o un incremento en la proporción de grasas, en particular de las saturadas (23).

En base a estos antecedentes, nosotros hipotetizamos que una incapacidad de la madre para acumular las grasas corporales durante la primera mitad de la gestación, que como hemos comentado más arriba constituye una fuente de sustratos para el feto en la segunda mitad, impide que se produzcan las adecuadas adaptaciones metabólicas durante el último tercio, que es cuando el crecimiento fetal es más rápido e intenso, comprometiéndose la disponibilidad de nutrientes para el feto. Para estudiar esta posibilidad, durante los 12 primeros días de la gestación alimentamos a ratas preñadas con el 60% de la dieta que ingerían ratas controles alimentadas *ad libitum*. A partir de esos 12 días, hasta el final de la gestación y en la etapa postnatal, todos los animales se alimentaron *ad libitum*. Observamos que este tratamiento disminuía el peso corporal de los fetos y reducía significativamente los depósitos grasos de la madre. Estudiamos también esas crías de adultas, observando que presentaban alterada la respuesta a una sobrecarga oral de glucosa,

de forma que cuando los datos de insulina y glucosa durante la prueba eran expresados en términos de "índice de sensibilidad insulínica", resultaba que este parámetro era significativamente más bajo en las crías adultas de las madres que habían sido malnutridas durante la primera mitad de la gestación que las de las ratas controles (4, 24).

Así pues, estos resultados permiten concluir que la incapacidad de la madre para acumular depósitos grasos durante la primera mitad de la gestación, compromete la adecuada llegada de nutrientes al feto durante la etapa de su más rápido crecimiento y altera la expresión de genes dependientes de esos nutrientes, de tal forma que esta alteración permanece oculta hasta que con la edad se acelera el proceso de resistencia a la insulina, incrementándose el riesgo de desarrollar diabetes (4).

Conclusiones

De lo presentado en este trabajo se pueden derivar una serie de conclusiones muy concretas:

1. Durante la primera mitad de la gestación, la madre acumula grasas, gracias a un activo anabolismo de su tejido adiposo y como resultado de una aumentada sensibilidad del tejido a la insulina.
2. En la segunda mitad de la gestación, y en particular en su último tercio, el tejido adiposo de la madre cambia a un intenso catabolismo, derivado de la resistencia insulínica que se produce. Ello permite un mayor aporte de sustratos hacia el feto, que se hace especialmente patente en la situación de ayuno, en que se produce una intensa gluconeogénesis a partir de glicerol y de cetogénesis a partir de los ácidos grasos derivados de la activa lipólisis del tejido adiposo. También este tejido constituye una fuente importante de PUFA para el feto, derivados de la dieta de la madre.

3. La resistencia insulínica del tejido adiposo en el último tercio de la gestación se produce como consecuencia de una disminuida fosforilación de tirosinas en las proteínas IR, IRS-1, Akt y ERK 1/2 de la cascada de señalización de la insulina en respuesta al estímulo de esta hormona y a una aumentada fosforilación en serina del IRS-1.
4. Cuando por alteraciones endocrinas o malnutrición de la madre, ésta no logra acumular esas grasas en la primera mitad de la gestación, disminuye la disponibilidad de nutrientes al feto durante la etapa de su máximo crecimiento, dando lugar a un menor peso al nacer y su consiguiente riesgo de padecer determinadas patologías de adulto.
8. Palacín M, Lasunción MA, Herrera E (1988) Utilization of glucose, alanine, lactate, and glycerol as lipogenic substrates by periuterine adipose tissue in situ in fed and starved rats. *J. Lipid Res.* 29: 26-32.
9. Herrera E, Lasunción MA, Montelongo A, Martín A (1993) Maternal-fetal metabolic relationship. In: Medina JM, Quero J, eds. *Physiologic basis of perinatal care*. Madrid: Ediciones Ergon, pp. 15-27.
10. Ramos P, Herrera E (1995) Reversion of insulin resistance in the rat during late pregnancy by 72-h glucose infusion. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 269: E858-E863.
11. Herrera E, Amusquivar E, López-Soldado I, Ortega H (2006) Maternal lipid metabolism and placental lipid transfer. *Horm. Res.* 65: 59-64.
12. Sevillano J, de Castro J, Bocos C, Herrera E, Ramos MP. 2007. Role of IRS-1 serine phosphorylation and adiponectin in adipose tissue insulin resistance at late pregnancy. *Endocrinology*. 148, 5933-42.
13. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM (1996) IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science* 271: 665-8.
14. Draznin B (2006) Molecular mechanisms of insulin resistance: Serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and increased expression of p85α - The two sides of a coin. *Diabetes* 55: 2392-7.
15. Youngren JF (2007) Regulation of insulin receptor function. *Cell. Mol. Life Sci.* 64: 873-91.
16. Herrera E, Gómez Coronado D, Lasunción MA (1987) Lipid metabolism in pregnancy. *Biol. Neonate*. 51: 70-7.
17. Herrera E, Lasunción MA, Palacín M, Zorzano A, Bonet B (1991) Intermediary metabolism in pregnancy. First theme of the Freinkel era. *Diabetes* 40 Suppl 2: 83-8.
18. Herrera E, Ortega H, Alvino G, Giovannini N, Cetin I (2004) Relationship between plasma fatty acid profile and antioxidant vitamins during normal pregnancy. *Eur. J. Clin. Nutr.* 58: 1231-8.
19. Amusquivar E, Herrera E (2003) Influence of changes in dietary fatty acids during pregnancy on placental and fetal fatty acid profile in the rat. *Biol. Neonate* 83: 136-45.
20. Barker DJP, Bagby SP, Hanson MA (2006) Mechanisms of disease: in utero programming in the pathogenesis of hypertension. *Nature Clinical Practice Nephrology* 2: 700-7.
21. Hales CN (2000) Early programming of glucose metabolism, insulin action and longevity. *Adv. Exp. Med. Biol.* 478: 57-64.

Bibliografía

1. Villar J, Cogswell M, Kestler E, Castillo P, Menendez R, Repke JT (1992) Effect of fat and fat-free mass deposition during pregnancy on birth weight. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 167: 1344-52.
2. López-Luna P, Muñoz T, Herrera E (1986) Body fat in pregnant rats at mid- and late-gestation. *Life Sci.* 39: 1389-93.
3. Knopp RH, Herrera E, Freinkel N (1970) Carbohydrate metabolism in pregnancy.VIII. Metabolism of adipose tissue isolated from fed and fasted pregnant rats during late gestation. *J. Clin. Invest.* 49: 1438-46.
4. Herrera E, López-Soldado I, Limones M, Amusquivar E, Ramos MP (2005) Experimental models for studying perinatal lipid metabolism. Long term effects of perinatal undernutrition. In: Koletzko B, Dodds P, Akerblom H, Ashwell M, eds. *Early nutrition and its later consequences: new opportunities*. Netherlands: Springer, pp. 95-108.
5. Bonet B, Herrera E (1991) Maternal hypothyroidism during the first half of gestation compromises normal catabolic adaptations of late gestation in the rat. *Endocrinology* 129: 210-6.
6. Ramos MP, Crespo-Solans MD, Del Campo S, Cacho J, Herrera E (2003) Fat accumulation in the rat during early pregnancy is modulated by enhanced insulin responsiveness. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 285: E318-E328.
7. Herrera E, Ayanz A (1972) Calculation of lipolysis and esterification from glycerol metabolism in rat adipose tissue. *J. Lipid Res.* 13: 802-9.

22. Langley-Evans SC, Gardner DS, Jackson AA (1996) Maternal protein restriction influences the programming of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J. Nutr.* 126: 1578-85.
23. Guo F, Jen K-LC (1995) High-fat feeding during pregnancy and lactation affects offspring metabolism in rats. *Physiol. Behav.* 57: 681-6.
24. Herrera E, López-Soldado I, Limones M, Amusquivar E, Ramos MP (2006) Lipid metabolism during the perinatal phase, and its implications on postnatal development. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 76: 216-24.
25. Palacín M, Lasunción MA, Asunción M, Herrera E (1991) Circulating metabolite utilization by periuterine adipose tissue in situ in the pregnant rat. *Metabolism* 40: 534-9.



Capítulo 9

Ácido fólico: vitamina *versus*
marcador de riesgo en enfermedad

Capítulo 9

Ácido fólico: vitamina *versus* marcador de riesgo en enfermedad

Gregorio Varela Moreiras

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos,
Universidad San Pablo-CEU, Madrid, y Fundación Española de la Nutrición (FEN)

Resumen

El ácido fólico (AF) es una vitamina hidrosoluble que constituye uno de los ejemplos más emblemáticos del creciente interés por las nuevas funciones de las vitaminas. Así, desde principios de los años 90, se sabe que la suplementación con ácido fólico durante la etapa periconcepcional y en los primeros estadios de la gestación reduce, en aproximadamente un 70% de los casos, la incidencia de malformaciones congénitas como son los defectos del tubo neural (DTN). Además, existe también un creciente interés por su implicación en la reducción de las concentraciones moderadas-elevadas de homocisteína, factor de riesgo cardiovascular. Otra nueva función atribuible a la vitamina es su relación con el cáncer colorrectal, además del creciente interés en su papel en las enfermedades neurodegenerativas. Se discuten igualmente las diferentes estrategias (fortificación vs. suplementación) para mejorar el estatus de la vitamina, en relación con el binomio beneficio/riesgo. Un aspecto muy reciente en este sentido, es la creciente preocupación sobre los posibles efectos adversos de las ingestas excesivas de ácido fólico, no sólo la interferencia a diferentes niveles con la vitamina B₁₂, sino también en su acción sobre el sistema inmune.

Introducción

El término ácido fólico se aplica en realidad a toda una familia de vitámeros con una actividad biológica equivalente. Otros términos como folato, folatos, y folacina se emplean indistintamente para designar estos compuestos. En algunos casos también se utiliza el término vitamina B₉ (1).

En 1931, Lucy Wills describió un “nuevo factor hematopoyético” en la levadura, que tenía la capacidad de curar la anemia macrocítica tropical prevalente en las mujeres de la India. Posteriormente, se encontró este mismo factor en extracto de hígado, el cual era curativo de la anemia perniciosa: a este nuevo y desconocido compuesto se le denominó “factor Wills”. Mitchell y col., en 1941, estudiando los factores de crecimiento para el *Lactobacillus casei* y *Streptococcus lactis*, fueron quienes propusieron por primera vez el término “ácido fólico”. El ácido fólico fue aislado, finalmente, en 1943 por el equipo de investigación de E.L. Robert Stokstad (Laboratorios Lederle), a lo que siguió la determinación de la estructura química y la síntesis del ácido pteroilmonoglutámico en 1945. Esta vitamina, a su vez, está intensamente relacionada con el metabolismo de la vitamina B₁₂, cuya deficiencia causa la llamada anemia perniciosa (2).

En la actualidad, además de la utilización terapéutica del ácido fólico para tratar la anemia megaloblástica y la deficiencia subclínica de esta vitamina, surge una nueva investigación que se centra fundamentalmente en el estudio de sus potenciales nuevas funciones en la prevención de defectos de nacimiento, enfermedades cardiovasculares, cáncer y, aún más recientemente, en el mantenimiento de la función cognitiva durante el proceso de envejecimiento e incluso en la presencia de síntomas relacionados con las enfermedades neurodegenerativas (2).

Estructura química y nomenclatura

La estructura que presentan todos los folatos en común es la del ácido pteroilglutámico (PteGlu), molécula constituida por:

- un anillo de pteridina;

- un residuo de ácido p-aminobenzoico, unido a la pteridina por un puente metileno C9-N10;

- un residuo de ácido glutámico, unido al p-aminobenzoico por un enlace amido;

El ácido pteroilglutámico o ácido fólico no se encuentra en la naturaleza en cantidades significativas, pero constituye la forma sintética más estable y más comúnmente utilizada en la fortificación de alimentos y en la formulación farmacéutica.

Los distintos folatos se diferencian entre sí por el anillo de pteridina, que puede presentar varias formas reducidas y diferentes tipos de sustituciones, y también se pueden diferenciar entre sí por el residuo de p-aminobenzoglutamato, que puede tener distinto número de restos de glutamato unidos mediante enlace peptídico.

FIGURA 1 | Estructura química del ácido pteroilglutámico.

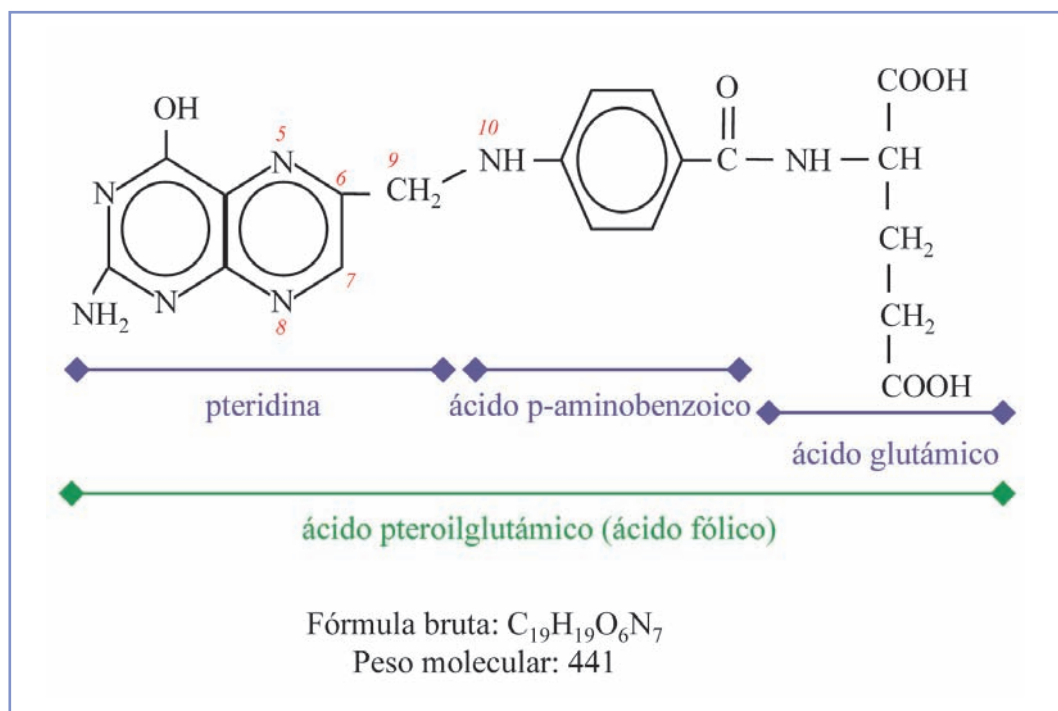


Tabla I. Los folatos. Esquema de estructuras y nomenclaturas

Nombre del compuesto	Característica estructural	Abreviaturas
Ácido pteroilglutámico Ácido fólico	No reducido, sin sustituciones	PteGlu
Dihidrofolato Ácido dihidrofólico	-H en 5,6	H ₂ PteGlu _n DHF
Tetrahydrofolato Ácido tetrahydrofólico	-H en 5,6,7,8	H ₄ PteGlu _n THF
5-formiltetrahydrofolato * Ácido 5-formiltetrahydrofólico Ácido folínico	-CHO en 5	5-formil-H ₄ PteGlu _n 5-formil-THF
10-formiltetrahydrofolato Ácido 10-formiltetrahydrofólico	-CHO en 10	10-formil-H ₄ PteGlu _n 10-formil-THF
5,10-meteniltetrahydrofolato * Ácido 5,10-meteniltetrahydrofólico	-CH= en 5,10	5,10-metenil-H ₄ PteGlu _n 5,10-metenil-THF
5,10-metiléntetrahydrofolato * Ácido 5,10-metiléntetrahydrofólico	-CH ₂ - en 5,10	5,10-metilén-H ₄ PteGlu _n 5,10-metilén-THF
5-metiltetrahydrofolato * Ácido 5-metiltetrahydrofólico	-CH ₃ en 5	5-metil-H ₄ PteGlu _n 5-metil-THF
...monoglutamato	1 glutamato	...PteGlu
...poliglutamato	n glutamatos	...PteGlu _n

(*) A pesar de la presencia de sustituyentes en el anillo de pteridina y, por tanto, de saturarse el doble enlace 5-6 con un solo hidrógeno, el prefijo indicando reducción (tetrahydro-) sigue manteniéndose por convenio.

Así, en el organismo, los folatos circulantes son derivados monoglutámicos y, en cambio, la mayoría de los folatos celulares contienen un total de 5 ó 6 residuos de glutamato (3).

Funciones bioquímicas y actividad biológica

En la célula, la función primordial de los folatos es actuar como sustratos y coenzimas en el metabolismo monocarbonado, aceptando, transfiriendo y facilitando la oxidación enzimática y reducción de unidades monocarbonadas. Así, la importancia clave del folato para la salud humana reside en su participación en la síntesis de ADN,

la interconversión de serina y glicina, la participación en el catabolismo de la histidina y la detoxificación del formiato y la S-metilación de la homocisteína para regenerar la metionina (2, 3).

Folatos y salud

El ácido fólico es un nutriente esencial para la vida celular, por lo que su deficiencia da lugar al desarrollo de patologías de mayor o menor gravedad. El trastorno más frecuente es la *anemia macrocítica o megaloblástica*, cuya sintomatología clínica es muy parecida a la de la anemia inducida por deficiencia de vitamina B₁₂ (4).

Es frecuente la deficiencia en folatos en las siguientes situaciones:

- *La mujer embarazada*: la anemia por carencia de ácido fólico es muy frecuente en el tercer trimestre del embarazo.
- *Las personas de edad avanzada*.
- *Los prematuros y los recién nacidos*.

Asimismo, cabe destacar una serie de circunstancias que pueden modificar la biodisponibilidad, la absorción, el metabolismo o la excreción de los folatos:

- *Patología intestinal*: Enfermedad de Crohn, la enfermedad celíaca, la colitis ulcerosa y la resección intestinal, por alteración en su absorción a nivel intestinal.
- *Alcoholismo crónico*.
- *Tabaquismo*.
- *Cáncer*.
- *Carencia de vitamina B₁₂*: la carencia de esta vitamina también puede inducir deficiencia en folatos, ya que altera su metabolismo. Ambas vitaminas son, respectivamente sustrato y coenzima de la metionina sintasa. Un bloqueo en la enzima conduce a la acumulación de los folatos en forma de metilTHF. El metilTHF no puede metabolizarse por otro mecanismo, lo que resulta en una *trampa para el folato* en una forma no funcional y, a su vez, conlleva la reducción concomitante del resto de los derivados activos.
- *Interacciones con medicamentos*: antitumorales, antipalúdicos, antiepilépticos, anticonvulsivantes, antibióticos, diuréticos, antirreumáticos y anticonceptivos orales.
- *Errores congénitos de metabolismo severos*: principalmente en niños, en los que la sintomatología no es sólo anemia megaloblástica, sino también retraso mental severo.

- *Variante termolábil de la metiléntetrahidrofolato reductasa (MTHFR)*: es una enzima crítica en el metabolismo del folato, que cataliza la reducción irreversible del 5,10-metilénTHF a 5-metilTHF, forma del folato predominante en plasma y donador del grupo metilo en la conversión de homocisteína en metionina (Figura 2). En el año 1988 se identificó una variante de la enzima MTHFR, que presenta menor actividad y es más termolábil. Esta variante de MTHFR se debe a un polimorfismo C667T en el gen que codifica la enzima. Los individuos homocigotos para el alelo MTHFR T⁶⁷⁷ tienen significativamente elevada la homocisteína plasmática y tendencia a tener bajas concentraciones de folato plasmático y eritrocitario y de vitamina B₁₂. La presencia de la variante termolábil de la MTHFR, junto con una situación de deficiencia en folato, puede estar implicada en la modificación del riesgo de enfermedades crónicas, como los defectos del tubo neural, la enfermedad cardiovascular e incluso el cáncer. Así, la modulación de estas anomalías metabólicas por medio de un aumento en la ingesta de folato sugiere que los requerimientos de folato pueden ser diferentes según los individuos presenten o no este tipo de polimorfismo genético. Este hecho supone una oportunidad única en la identificación de grupos de individuos que presenten un mayor riesgo de desarrollar alguna de estas enfermedades crónicas y en la posible prevención mediante el empleo de folato y otros nutrientes implicados en el metabolismo de la MTHFR.

Acido fólico y embarazo. Prevención de los Defectos del Tubo Neural

La expresión “Defectos del Tubo Neural” (DTN) es un concepto genérico que se emplea para describir una malformación de la médula espinal durante la fase embrionaria o fetal. En sus diferentes formas (anencefalia, meningocele, espina bífida), son especialmente graves y muchas veces incompatibles con la vida.

Así, parece claro que la mayoría de los DTN pueden prevenirse por medio de un aumento en la ingesta materna de ácido fólico durante la etapa periconcepcional. Sin embargo, el mecanismo por el cual la ingesta adecuada de folato reduce el riesgo en la fase crucial del desarrollo embrionario del tubo neural, sigue siendo desconocido. El aumento en la ingesta de folato podría superar un defecto metabólico aún no identificado, en la producción de proteínas y/o ADN o en la regulación de la expresión génica en el momento del desarrollo y cierre del tubo neural. Descubrimientos recientes sobre el polimorfismo C677T de la MTHFR y sobre otras variantes genéticas de otras enzimas implicadas en el metabolismo de los folatos han proporcionado una nueva interpretación a la bioquímica del folato, permitiendo un más preciso entendimiento de cómo las variaciones genéticas influyen en las rutas folato dependientes de la embriogénesis. Estos avances han sugerido que el estatus de folato puede encontrarse parcialmente bajo control genético, y que puede implicar un "efecto cóctel" resultante de interacciones entre nutrientes, genes y enzimas (7).

También en los últimos años, se ha demostrado la existencia de autoanticuerpos contra los receptores de folato de la membrana celular en el suero de mujeres que han tenido embarazos complicados con DTN. Esto podría bloquear la captación celular del folato, y podría explicar en cierto modo por qué la suplementación con ácido fólico previene los DTN (8).

Estrategias de salud pública para la prevención de malformaciones congénitas

La nueva función preventiva de los DTN ha dado lugar a tres posibles estrategias nutricionales a considerar: mejorar la ingesta de folatos naturales en la dieta; la suplementación con ácido fólico y la fortificación de alimentos con la vitamina (9).

En relación con una posible mejora del estatus vitamínico a través de la dieta, resulta muy difícil ya que incluso un país como España, que tiene las ingestas más elevadas de folatos de Europa, no cubre las nuevas recomendaciones de la vitamina. La biodisponibilidad del folato en un número muy amplio de alimentos es incompleta y muy variable y, sin embargo, es un claro determinante del estatus vitamínico. En general, la biodisponibilidad del ácido fólico (ya sea en forma de suplementos o en alimentos fortificados), es casi siempre más elevada que la que se obtiene a partir de los folatos contenidos de manera natural en los alimentos. Sólo los monoglutamatos (forma en que se presenta la vitamina en suplementos y alimentos enriquecidos) se absorben directamente en el intestino, mientras que los poliglutamatos (forma de la vitamina en los alimentos) deben ser primero hidrolizados a monoglutamatos por acción de un enzima intestinal, la pteroilpoliglutamato hidrolasa. En conjunto, se absorben alrededor del 90% de los monoglutamatos y entre el 50 y el 90% de los poliglutamatos, aunque las cifras varían mucho según el tipo de alimento y la metodología de análisis empleada.

También los factores genéticos han despertado la atención en el presente, ya que los diferentes polimorfismos enzimáticos pueden influir en la biodisponibilidad y metabolismo.

Además, debe considerarse la progresiva modificación de las diferentes recomendaciones, de forma que (10):

- 1) La primera de ellas, emitida en 1991, recomendaba 4 mg /día para las mujeres que ya habían padecido un embarazo afectado por DTN.
- 2) Poco después, en 1992, se recomendaron 0,4 mg /día para mantener un estatus normal de folato durante el embarazo.
- 3) Más recientemente, desde 1998, se recomiendan 0,6 mg /día *Equivalentes Dietarios de Folato* en gestación.

4) También desde este mismo año, 1998, se recomiendan 0,4 mg /día de ácido fólico sintético, además del procedente de una dieta variada, para todas las mujeres con posibilidad de quedarse embarazadas.

Sin embargo, *no se conoce aún la dosis de ácido fólico más baja y que sea efectiva para una gestación adecuada y con menor riesgo, y es necesario cuestionarse hasta qué punto la suplementación prolongada con ácido fólico puede asociarse con posibles efectos adversos*, tal como se discute en otro apartado del presente capítulo.

Además de la recomendación del uso de suplementos, se ha sugerido que la fortificación de alimentos con ácido fólico podría conducir a un estatus adecuado de folato para todas las mujeres con posibilidad de quedarse embarazadas. De hecho, la fortificación de cereales y derivados con ácido fólico es obligatoria en EEUU desde 1998 (140 µg de ácido fólico /100 g de cereal o derivado). La política de fortificación obligatoria iniciada por EEUU y Canadá ha sido seguida hasta el momento por otros muchos países, más de 40, aunque ninguno del ámbito europeo.

En Europa, las mayores reservas a la hora de introducir la fortificación obligatoria derivan del riesgo de que ingestas elevadas de ácido fólico (>1 mg/día) puedan enmascarar y retrasar el diagnóstico de la deficiencia en vitamina B₁₂, pudiendo progresar a lesiones neurodegenerativas de carácter grave, especialmente en las personas mayores. Otro grupo de población para el que se desconocen los efectos de ingestas elevadas de ácido fólico a medio y largo plazo son los niños, para los que las *ingestas máximas tolerables* se sitúan mucho más cerca de las ingestas recomendadas (11).

En Estados Unidos ya se han publicado algunos resultados referentes al éxito o no de la fortificación obligatoria. La efectividad de la política de fortificación en relación con la mejora en el estado nutricional en folatos es significativa: la mayor parte de los estudios muestran un importante incremento en las medidas sanguíneas de folato (sérico, plasmático y eritrocitario) y una importante reducción en las concentraciones plasmáticas de homocisteína, un indicador indirecto del estado nutricional en folatos (12, 13, 14).

Tabla II. Efecto de la fortificación obligatoria de los alimentos con ácido fólico sobre el estado nutricional en folato de distintas poblaciones

Estudio	Prefortificación	Postfortificación
NHANES, EEUU Hombres y mujeres, no toman suplementos	Folato sérico 10,7 nmol/L	Folato sérico 28,6 nmol/L
Estudio Framingham, EEUU Hombres y mujeres, no toman suplementos	Folato sérico 10,4 nmol/L Folato eritrocitario 737 nmol/L	Folato sérico 22,7 nmol/L Folato eritrocitario 1.020 nmol/L
Canadá mujeres de 18-42 años	Folato eritrocitario 537 nmol/L	Folato eritrocitario 741 nmol/L
Chile	Folato sérico 9,7 nmol/L Folato eritrocitario 290 nmol/L	Folato sérico 37,2 nmol/L Folato eritrocitario 707 nmol/L

En cuanto a la prevención de los DTN, los estudios observacionales más recientes muestran una disminución en la prevalencia de un 19-25%, porcentaje que se interpreta como moderadamente satisfactorio, teniendo en cuenta que las expectativas eran notablemente superiores (reducción entre el 30-40%)(15, 16).

Ácido fólico, homocisteína y enfermedad cardiovascular

Los niveles elevados de homocisteína han sido identificados como factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular y cerebrovascular (17). El aumento de la ingesta de folatos estaría asociado con una disminución de los niveles de homocisteína y, consecuentemente, se ha hipotetizado que el incremento en la ingesta de folato reduciría la mortalidad por lesión vascular, pero esto está aún por confirmar (18, 19). Sin embargo, sí se ha demostrado que una homocisteína elevada no es un indicador específico de una ingesta inadecuada de folato. Esto puede estar causado por insuficiencias dietarias de vitamina B₁₂, vitamina B₆, por determinadas condiciones como el fallo renal, polimorfismo de la MTHFR o por el uso de ciertos medicamentos (19). De hecho, la concentración plasmática de homocisteína puede estar también influenciada por otros factores dietéticos como: riboflavina, alcohol y cafeína y por factores de estilo de vida como el tabaco o la hipertensión.

Por otro lado, todavía no se han completado los estudios clínicos que evalúan si el aumento de homocisteína es el agente causal de la patología vascular, o si es únicamente un marcador o un resultado de la misma. Los meta-análisis hasta ahora realizados arrojan resultados controvertidos sobre la relación causal entre el aumento de homocisteína y la enfermedad cardiovascular. Lo que sí se ha demostrado es que las terapias basadas en la administración de folato solo o en combinación con otras vitaminas del grupo B reducen la homocisteína en la mayoría de los casos.

La pregunta pendiente es si esta intervención logra reducir la mortalidad por enfermedad cardiovascular (20, 21, 22).

Prevención del cáncer

Muchos estudios epidemiológicos y clínicos en humanos y experimentales en animales sugieren que el estatus en folatos puede participar en la modulación del proceso de carcinogénesis (23). Esta observación es válida para muchos tejidos, pero de manera más consistente en el caso del cáncer colorrectal (una baja ingesta de folato se relaciona con un incremento en el riesgo de cáncer colorrectal). Los mecanismos que median esta modulación permanecen sin considerarse como definitivos: alteraciones en la metilación a lo largo del genoma o en un gen específico y/o alteraciones en la estabilidad del ADN, resultantes de roturas en la cadena de ADN o falta de incorporación de uracilo, son los candidatos principales en este asunto. Recordemos que el folato tiene un papel fundamental en la metilación biológica y en la síntesis de nucleótidos y, por tanto, no debe sorprender que la depleción de folato altere la metilación del ADN y disminuya su estabilidad. La hipótesis de que estos dos mecanismos son los principales por los cuales el folato modula el riesgo de padecer cáncer es también apoyado por la observación epidemiológica de que el polimorfismo de la MTHFR afecta diferencialmente al riesgo relativo de sufrir cáncer de colon dependiendo del estatus de folato, debido a que esta enzima cataliza la reacción que determina si el folato celular se destina a la metilación biológica o a la síntesis de nucleótidos. Este fenómeno sugiere que hay un desequilibrio entre la metilación biológica y la síntesis de nucleótidos que es responsable de la carcinogénesis relacionada con el folato. Asimismo, este polimorfismo parece interactuar con el folato y la riboflavina en la modulación del riesgo de cáncer, de manera que varía de acuerdo con el emplazamiento del cáncer.

El control de la proliferación celular, el cual también está relacionado con la metilación de ADN, es otro mecanismo candidato a la modulación que ejerce el folato en la carcinogénesis. La deficiencia de folato en tejidos epiteliales normales puede ser un factor que contribuya y predisponga a la transformación neoplásica y niveles modestos de suplementación parece que logran suprimir el desarrollo de tumores en tejidos normales. Sin embargo, estudios en animales han mostrado también que la dosis y el momento de la intervención con folato es crítica para proporcionar una quimioprotección segura y efectiva; niveles excepcionalmente altos de suplementación y la intervención con folato cuando ya se ha establecido un foco microscópico de neoplasia en la mucosa intestinal promueven, más que suprimen, la carcinogenesis colorrectal (24, 25, 26). Por tanto, en esta patología el efecto dual parece bien establecido.

Estado cognitivo y enfermedades neurodegenerativas

La concentración sanguínea de tHcy parece incrementarse a medida que envejecemos. La concentración de Hcy aumenta progresivamente con la edad en ambos sexos. Dicho incremento podría relacionarse con la disminución de las concentraciones de las vitaminas necesarias para el metabolismo de la Hcy. De hecho, la elevación de Hcy se puede considerar como un hecho prácticamente universal, debido en gran medida a estados deficitarios en vitaminas (27). Especial relevancia tiene el hecho del interés actual en conocer la influencia que tienen elevaciones moderadas en la concentración de Hcy sobre diferentes situaciones neurodegenerativas, especialmente en aquellas asociadas con una menor capacidad cognitiva. A este respecto, se ha demostrado que niveles altos de homocisteína plasmática se consideran factor de riesgo independiente para el desarrollo de la demencia y la enfermedad de Alzheimer.

La etiología de este factor de riesgo no está clara, pero puede ser debido a un efecto neurotóxico de la homocisteína, o al decrecimiento en la disponibilidad de S-adenosilmetionina, que da lugar a una hipometilación del tejido cerebral. Lo que sí se conoce es que los niveles altos de homocisteína están relacionados con una deficiencia en ácido fólico, vitaminas B₁₂ y B₆, deterioro de la función cognitiva y demencia, pero todavía no hay pruebas de que el tratamiento con estas vitaminas pueda revertir el deterioro cognitivo o la demencia, aunque devuelvan los niveles de homocisteína a su estado normal. Del mismo modo, se observó que independientemente de la hiperhomocisteinemia, las concentraciones bajas de folato sérico son factor de riesgo del desarrollo de algunas formas de demencia y Alzheimer y del declive de la función cognitiva en personas de edad avanzada (28).

Efectos adversos asociados a ingestas elevadas de ácido fólico

En principio, el ácido fólico no debe presentar problemas de toxicidad, incluso en un amplio rango de dosis. Sin embargo, este criterio clásico se ha basado en ensayos agudos de toxicidad, muy diferentes al patrón de consumo actual para las vitaminas, crónico, y para el cual no se tiene información suficiente. Es indudable que actualmente la población en general está consumiendo cantidades mucho más elevadas de la vitamina ácido fólico debido a las potenciales nuevas funciones y, en este momento, desconocemos la dosis mínima y segura para la prevención de los DTN y la reducción de los niveles de homocisteína. Básicamente, se ha considerado que el mayor riesgo de exposición a dosis elevadas de la vitamina es el posible enmascaramiento de una deficiencia en vitamina B₁₂ en anemia perniciosa, ya que la suplementación o fortificación continuada con folato puede reducir los síntomas hematológicos, pero no los neurológicos (22).

En este sentido, el *Institute of Medicine* (EEUU) recomienda no superar la ingesta de 1 mg/día (10). Éste es un problema potencial de especial relevancia en las personas de edad, debido a los frecuentes problemas de absorción para la vitamina B₁₂ asociados al envejecimiento. Otro grupo de población de riesgo que debe considerarse es el caso de los niños. Paradójicamente, no se han realizado ni se están llevando a cabo estudios en la población infantil para comprobar los efectos de la exposición a largo plazo de varias veces sus ingestas recomendadas de ácido fólico (29).

De igual modo, se debería profundizar más en el hecho de que el ácido fólico (ácido pteroilglutámico) se tiene que metabolizar a 5-metiltetrahidrofólico antes de entrar en la circulación portal, y que ingestas superiores a 200 µg/día parece que saturan esta capacidad metabólica, lo que conduce a la aparición de ácido fólico no metabolizado en el plasma. Teniendo en cuenta este fenómeno, y estimando que la ingesta actual de ácido fólico se sitúa en torno a los 200 µg/día, es probable que se produzca una presencia constante de ácido fólico no metabolizado en sangre. Resultados recientes sugieren una asociación entre la presencia de ácido fólico sin metabolizar en sangre y una alteración del sistema inmune (30).

A la vista de todas estas consideraciones, se mantiene abierto el debate sobre la idoneidad de esta medida de política nutricional, y se plantea la necesidad de evaluar los efectos tanto potencialmente beneficiosos como adversos a medio y largo plazo sobre la población en general, y de forma concreta en determinados subgrupos de población más vulnerables. También es cierto que no ha transcurrido el tiempo necesario para evaluar en países que fueron pioneros en la fortificación obligatoria el efecto sobre el posible enmascaramiento, aunque sí existen ya datos que demuestran ingestas considerablemente más altas que las inicialmente previstas.

Bibliografía

1. Varela Moreiras G, Alonso-Aperte E. (1999). Ácido fólico y Salud. Madrid: Ediciones Fundación Española de la Nutrición.
2. Varela Moreiras G. (2005). Ácido fólico y vitamina B12. En: Gil A, eds. Tratado de Nutrición. Madrid: Sociedad Española de Nutrición Enteral y Parenteral/Acción Médica SA; p. 731-754.
3. Selhub J; Rosenberg I. (1996). Folic Acid. En: Present knowledge in nutrition. 7ª edición. Ziegler, EE; Filer, LJ, eds. ILSI Press, Washington, DC, EEUU pp: 206-19.
4. Varela Moreiras G. (2003). Folate deficiency: from the basic to clinic. En: Vaquero P, Carvajal A, García Arias T, Sánchez-Muniz FJ, eds. Bioavailability of Micronutrients and Minor Dietary Compounds. Metabolic and Technological Aspects. Kerala, India: Research Signpost; p. 69-81.
5. MRC Vitamin Study Research Group. (1991). Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. Lancet; 338: 131-137.
6. Czeizel A; Dudás I. (1992). Prevention of the first occurrence of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. N Engl J Med; 327: 1832-1835.
7. Moyers S; Bailey L (2001). Fetal malformations and folate metabolism: review of recent evidence. Nutr Rev 59 (7): 215-224.
8. Varela-Moreiras G. (2001). Nutritional regulation of homocysteine: effects of drugs. Biomed Pharmacoter 55: 448-453.
9. Scientific Advisory Committee on Nutrition (SACN). (2006). Folate and disease prevention (Report). Food Standards Agency (UK).
10. Food and Nutrition Board. Folate. (1998). En: IOM (Institute of Medicine), eds. Dietary Reference Intakes for thiamine, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington DC: National Academic Press; p.196-305.
11. Czernichow S, Noisette N, Blacher J, Galan P, Mennen L, Hercberg S, Ducimetiere P. (2005). Case for folic acid and vitamin B12 fortification in Europe. Seminars in Vascular Medicine; 2: 156-162.
12. Rader JJ. (2002). Folic acid fortification, folate status and plasma homocysteine. J Nutr 132: 2466S-2470S.
13. Honein MA., Paulozzi LJ, Mathews TJ, Erickson JD, Wong, LY. (2001). Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. JAMA 285: 1981-6.

14. Gangi V, Kafai MR. (2006). Trends in serum folate, RBC folate and circulating total homocysteine concentrations in the United States: Analysis of data from the National Health and Nutrition examination surveys, 1988-1994, 1999-2000 and 2001-2002. *J Nutr* 136, 153-158.
15. Mills JL, Signore C. (2004). Neural tube defect rates before and after food fortification with folic acid. *Birth defects Res A Clin Mol Teratol* 70, 844-845.
16. Freire WB, Hertrampf E, Cortes F.(2000). Effect of folic acid fortification in Chile: preliminary results. *Eur J Pediatr Surg* 10, suppl, 42-43.
17. Refsum H, Ueland PM, Nygård O, Vollset SE.(1998). Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 49, 31-62.
18. Homocysteine Studies Collaboration. (2002). Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis *JAMA* 288, 2015-2022.
19. Strain JJ. (2004). B-vitamins, homocysteine metabolism and CVD. *Proc Nutr Soc*; 63: 597-603.
20. Varela-Moreiras G. Dieta y homocisteína. (2005). En: Blanco F, Chacon P, Deulofeu R, Dulin E, editores. Homocisteína. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular; p. 101-111.
21. Varela-Moreiras G. Vitaminas y Homocisteína. (2003). En: Varela Moreiras G, Alonso-Aperte E, eds. Vitaminas y Salud: de las enfermedades carenciales a las degenerativas. Madrid: Fundación BBVA.
22. De Meer K, Finglas PM, Molloy A, Pietrzik K, Powers, HJ, Jägerstad M, van Vliet T, Havenaar R, Van Der Straeten D, Varela-Moreiras G, Verhoef P.(2005). Position paper: goals for folate and related vitamins in Europe and the developing world. *Eur J Clin Nutr* 34, 187-193.
23. Giovannucci E.(2002): Epidemiological studies of folate and colorectal neoplasia: a review. *J.Nutr.*132, 2350S-2355S.
24. Jang H, Mason JB, and Choi SW. (2005). Genetic and epigenetic interactions between folate and aging in carcinogenesis. *J Nutr*; 135 (12 Suppl): 2967S-2971S.
25. Varela-Moreiras G, González MP, Alonso-Aperte E. (2005). Impaired methionine and folate metabolism in colorectal carcinogenesis. *Trends in Food Science & Technology*; 16:282-288.
26. Kim YI. (2004). Folate and DNA methylation: a mechanistic link between folate deficiency and colorectal cancer?. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*;13: 511-519.
27. Troen A, Rosenberg I. (2005). Homocysteine and cognitive function. *Seminars in Vascular Medicine*; 5: 209-214.
28. Varela-Moreiras G, Escudero JM, Alonso-Aperte E. (2007) Homocisteína, vitaminas relacionadas y estilos de vida en personas de edad avanzada: estudio SÉNECA. *Nutr Hosp*; 22 (3): 346-53.
29. Smith AD. (2007). Folic acid fortification: the good, the bad, and the puzzle of vitamin B12. *Am J Clin Nutr* 85: 3-5.
30. Troen AM., Mitchell B., Sorensen B., Wener MH., Johnston A., Wood B., Selhub J., McTiernan A., Yasui Y., Oral E., Potter JD, Ulrich CM. (2006). Unmetabolized Folic Acid in Plasma is associated with reduced Natural Killer Cell Cytotoxicity among Postmenopausal Women. *J Nutr* 136: 189-194.



Capítulo 10

Ferropenia y otras alteraciones
del metabolismo del hierro.
Un problema de salud pública
y su impacto actual
en la población laboral

Capítulo 10

Ferropenia y otras alteraciones del metabolismo del hierro. Un problema de salud pública y su impacto actual en la población laboral

Bermejo Bermejo M, Moreno Alonso R, Zúñiga Gil C

Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Unidad de Vigilancia de la Salud y Salud Laboral. Madrid.

Resumen

A pesar de los avances sanitarios y específicamente en el campo de la hematología y la nutrición, la anemia ferropénica continúa siendo la alteración hematológica de mayor prevalencia a escala mundial y la causa más frecuente de las anemias en la práctica clínica diaria de los países desarrollados, tanto en ámbito extrahospitalario como hospitalario.

La etiología es múltiple, la práctica clínica diaria indica que -a pesar del gran avance en su conocimiento- dicha patología no siempre es fácil de diagnosticar, porque: pueden confluir varias causas, puede deberse a una etiología potencialmente grave, se detectan muy frecuentemente manejos terapéuticos inadecuados de la ferropenia y de la anemia ferropénica que inducen a errores diagnósticos y porque hay factores etiopatogénicos no bien conocidos que deben continuar siendo investigados.

Se presenta una revisión de la situación actual y sus implicaciones en el medio laboral, específicamente en aquellos trabajos de potencial riesgo químico/toxicológico, radiactivo y/o biológico en los que se hace imprescindible un estudio integral (prevención primaria y secundaria) de cualquier ferropenia no filiada o insuficientemente investigada.

Se propone un algoritmo para el estudio, control y seguimiento de esta patología dentro del ámbito de la Salud Laboral y la Medicina del Trabajo para llevar a cabo el abordaje multidisciplinar de esta patología.

¿Qué es la ferropenia? (1, 3, 4)

Es la disminución del Hierro (Fe) en el organismo con tasas por debajo de lo normal de hierro en plasma, glóbulos rojos y depósitos de hierro (ferritina) en el organismo.

Tabla I. Fases de la ferropenia (4)

FASE 1	La pérdida de fe supera a la ingesta. Agotamiento progresivo de los depósitos Fe	Hb normal Fe sérico normal Ferritina↓ * Transferrina↑** Capacidad fijación de Fe↑
FASE 2	El agotamiento de los depósitos de Fe no puede satisfacer las exigencias de la médula eritroide	Fe sérico↓ Receptor de Ferritina serica↑ Transferrina ↑ Saturación Transferrina ↓
FASE 3	Anemia *** asintomática	Hematíes e índices normales
FASE 4	Anemia franca pero aún asintomática	1º: microcitosis 2º: hipocromía
FASE 5	Anemia microcítica e hipocrómica	Aparición de síntomas y signos detectables en la exploración física

* ↓: Disminuido
 ** ↑: Aumentado.
 *** : Criterios de anemia según OMS: Hemoglobina (Hb) <12 mg/dl en mujeres y <14 mg/dl en varones.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) existe anemia cuando el descenso de Fe da lugar a una Hemoglobina (Hb) por debajo de 14 mg/dl en el hombre y de 12 mg/dl en la mujer.

La ingesta diaria de alimentos de una dieta "normal" suministra unos 15 mg de Fe/ día, de ellos se absorbe -en intestino delgado y parte alta del yeyuno- sólo el 5% (0,75-1.5 mg/día). Diariamente se pierde 1mg de Fe a través de la orina, heces, sudor, descamación celular, piel y aparato digestivo. Esto significa que el aporte diario de Fe (aprox. 1 mg/día) está muy igualado a las pérdidas (aprox. 1 mg/día); además, en las mujeres en edad fértil existe una pérdida adicional por la menstruación mensual de unos 20 mg de Fe/ mes.

Dada la fragilidad de dicho equilibrio, cuando las pérdidas de Fe superan a la ingesta, descienden los depósitos de Fe y se produce ferropenia que se manifiesta, en su presentación más común, en 5 fases progresivas (Tabla I) que finalmente conducen a un cuadro de anemia caracterizada -en su forma más típica- por hematíes pequeños y pálidos (anemia microcítica e hipocrómica) (1, 3, 4).

Aunque la OMS describe la ferropenia como el trastorno nutricional más común, junto con la anemia a la que da lugar, el déficit nutricional como causa única de ferropenia es infrecuente en los países desarrollados, salvo que exista un incremento de las demandas de Fe como por ejemplo en la mujer gestante, el crecimiento de niños y adolescentes, la actividad deportiva o los trabajos con carga física importante.

Estado actual del tema

A pesar de los avances sanitarios y específicamente en el campo de la Hematología y la Nutrición, la anemia ferropénica continúa siendo actualmente la alteración hematológica de mayor prevalencia a escala mundial (1, 3, 4) y es la causa más frecuente de las anemias en la práctica clínica diaria de los países desarrollados, tanto en ámbito extrahospitalario como hospitalario. En los países industrializados afecta a un 2-5% de los adultos (hombres y mujeres postmenopáusicas) y asciende al 10% en las mujeres de edad reproductiva.

Tabla II. Causas de anemia ferropenia (1, 4, 18, 23)

Frecuentes en países desarrollados	Frecuentes en países en vías desarrollo	Otras causas
Metrorragias/ menstruación abundante Gestación Dietas desequilibradas: (Malnutrición por dietas vegetarianas, dietas milagro para adelgazar etc) Pólipos colónicos benignos Ingesta de Acetilsalicílico (AAS) y Antiinflamatorios no esteroideos (AINES) Angiodisplasia Cáncer de colon Cáncer de estómago Colitis Ulcerosa Enfermedad celíaca Enfermedad de Crohn Gastrectomía	Desnutrición/ Déficit nutricionales Parásitos intestinales <i>Anquilostoma duodenal</i> <i>Necator americano</i>	Cáncer esófago Cáncer vejiga Carcinoma ampolla Vater Divertículo de Meckel Enfermedad Rendu-Osler Enfermedad de Whipple Esofagitis Linfoma ID* Leiomioma ID Otros tumores de ID Pólipos duodenales Úlcera péptica g-i **
*ID: Intestino Delgado **g-i: gastrointestinal		

La etiología es múltiple (Tabla II). Además del incremento de las demandas en determinadas edades y situaciones referidas, cabe destacar que en varones adultos y en mujeres postmenopáusicas las causas más frecuentes de ferropenia y de anemia ferropénica son las pérdidas de hierro producidas por patologías del tracto gastrointestinal (fundamentalmente colon y estómago) que cursan con hemorragias (un 10-15% de dichas lesiones son neoplasias malignas) y las hemorragias digestivas inducidas por la ingesta de AAS (Acido Acetil Salicílico) y otros AINES (AntiInflamatorios No Esteroideos). En las mujeres en edad fértil la causa principal de ferropenia es la pérdida de origen menstrual, pero siempre deben investigarse otros posibles mecanismos pues alguno de ellos son potencialmente graves (tumores...). Entre los procesos que causan malabsorción de hierro, el más frecuente es la Enfermedad Celíaca.

En los países industrializados —a pesar de las campañas y recomendaciones sanitarias que fomentan los hábitos dietéticos saludables—, los patrones alimentarios de la dieta medi-

terránea han evolucionado de forma poco favorable y se han incrementado los casos de “malnutrición” por dietas desequilibradas (“dietas milagro para perder peso”, vegetarianas, “modas dietéticas” etc.). Estas dietas conducen a deficiencias de vitaminas y minerales y alteraciones metabólicas y son peligrosas para la salud. La Agencia Española para la Seguridad Alimentaria (AESA) ha clasificado recientemente como “dietas milagro” sin fundamento científico y con riesgo para la salud numerosas dietas de las más populares y difundidas entre la población general (18, 21) (Tabla III).

Tabla III. Principales “Dietas Milagro” —desequilibradas y nocivas— (18),

Clasificación AESA 2007
 (Agencia Española de Seguridad Alimentaria)
<http://www.aesan.msc.es/aesa/web/AesaPageServer?idpage=89&idcontent=7239>

“Dieta disociada”	“Dieta del grupo sanguíneo”
“Dieta Atkins”	“Dieta de Montignac”
“Dieta clínica Mayo”	“Dieta de la Luna”
“Dieta de la Sopa”	“Test de Alcat”

Todas esas dietas desequilibradas pueden provocar deficiencias de proteínas, vitaminas y minerales porque hacen descender mucho el peso corporal en las primeras semanas a base de una destrucción de las proteínas corporales y pérdida de masa muscular cuyo tejido es muy rico en agua, con lo que se elimina mucho líquido al principio. Como consecuencia, en el organismo se ponen en marcha potentes mecanismos nerviosos y hormonales que se oponen a esa pérdida brusca de peso (más de 5 kg por mes) con un mayor ahorro energético e incremento del apetito. Estos mecanismos hacen que todas esas “dietas milagro desequilibradas” favorecen el efecto “rebote” porque conducen a una rápida recuperación del peso perdido en cuanto se vuelve a comer de modo habitual, y ese peso recuperado se debe fundamentalmente a la formación de tejido graso que es, precisamente, el que puede originar problemas de salud y que se reduce cuando seguimos una dieta equilibrada (18).

No hay que olvidar, además, que en un mismo paciente puede confluir más de una causa de anemia o de alteraciones de la regulación del hierro, por lo que se debe hacer un estudio integral de los mismos.

La experiencia clínica refleja que, a pesar del gran avance en el conocimiento médico sobre la anemia ferropénica, dicha patología no siempre es fácil de diagnosticar, porque: pueden confluir varias causas, puede deberse a una etiología potencialmente grave, se detectan muy frecuentemente manejos terapéuticos inadecuados de la ferropenia y de la anemia ferropénica que inducen a errores diagnósticos y porque hay factores etiopatogénicos no bien conocidos que deben continuar siendo investigados (3, 17, 20, 23).

Es habitual encontrar muchos pacientes con anemia que son tratados sistemáticamente por sus médicos con hierro oral sin haber efectuado ningún estudio diagnóstico previo

ni investigación alguna del origen de la ferropenia y/o anemia, o bien sobre los que sólo se ha efectuado un estudio incompleto. Otro error frecuente es la utilización de productos farmacológicos de hierro a dosis subterapéuticas, lo que impide la recuperación de la anemia (1, 3, 4), con pacientes que acuden a consulta refiriendo “anemia crónica” y que reciben tratamientos “intermitentes” con Fe oral. Se pueden generar de este modo dudas diagnósticas e interpretaciones incorrectas de una anemia ferropénica inadecuadamente tratada como una “anemia resistente al hierro oral” o malabsorción del hierro. Todo ello puede conllevar importantes retrasos en la resolución de la anemia y de la causa que la produce que mientras no se investigue y solucione podría seguir progresando, con enorme repercusión sobre la evolución y pronóstico del paciente, sabiendo que una de las causas más frecuentes de anemia ferropénica en el adulto son las hemorragias (principalmente del aparato digestivo) y que en algunos casos la causa de las mismas es un tumor maligno.

Siempre que se diagnostica una ferropenia debe investigarse la causa/s y tratarse de modo completo. El tratamiento con Fe oral (preferiblemente con sales ferrosas por su mejor absorción intestinal) debe mantenerse al menos tres meses más después de que las cifras de Hemoglobina se hayan normalizado, y es necesario efectuar el seguimiento y control periódico post tratamiento del paciente. En las anemias ferropénicas muy severas puede ser útil administrar concomitantemente ácido fólico ya que las demandas de Fólico están incrementadas por el aumento en la síntesis de Hemoglobina que ocurre al iniciar el aporte de Fe, y valorar también otros déficits de vitaminas o minerales (1, 3, 4).

Síntomas clínicos de Anemia Ferropénica:

Pueden ser debidos a la anemia, a la deficiencia específica de hierro, a la existencia de patología subyacente o bien a la combinación de estos tres aspectos. (1, 4). (Figura 1).

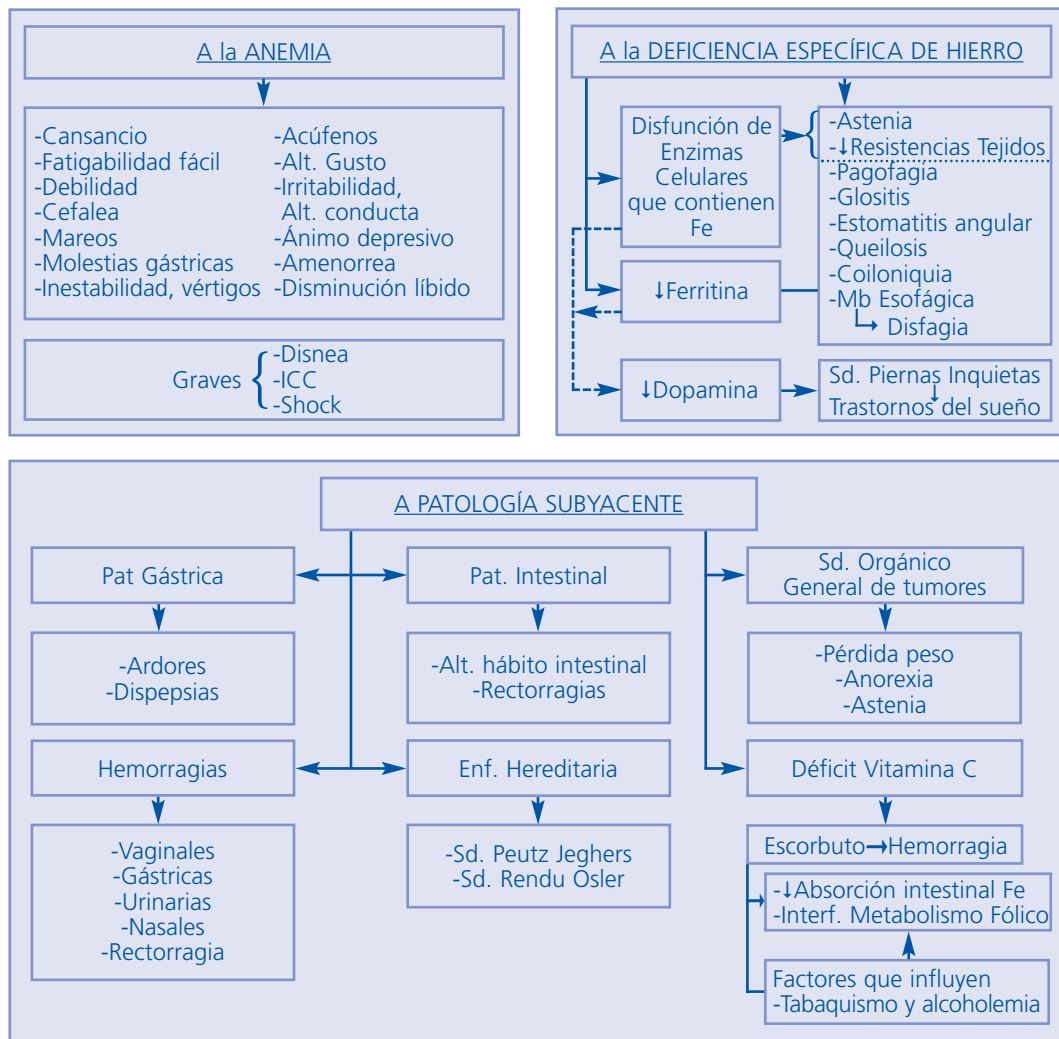
a) Síntomas debidos a la anemia:

Según el tiempo de evolución de la ferropenia y el tiempo que tarde en instaurarse la anemia los síntomas serán variables. En anemias con Hb <7 g/dl generalmente aparecen como síntomas cansancio, fatigabilidad fácil, sensación de debilidad, cefalea, episodios de mareos y sensación de inestabilidad o episodios de tipo vértigo; también pueden aparecer, acúfenos ("pitidos en el oído"), alteraciones del gusto, irritabilidad e incluso

cambios en la conducta o estado de ánimo deprimido, trastornos de la menstruación (amenorrea), molestias gastrointestinales y pérdida de la libido. En anemias aún más severas se pueden desencadenar disnea (dificultad respiratoria) con insuficiencia cardíaca y shock en los casos más graves.

Sin embargo en los casos de anemia crónica instaurada lentamente tras un largo tiempo de evolución, el paciente puede mantenerse asintomático incluso con Hb <7 g/dl.

FIGURA 1 | Síntomas por defecto del hierro



b) Síntomas debidos a la deficiencia específica de hierro:

Se ha descrito astenia y disminución de la resistencia como consecuencia de un efecto distinto sobre los tejidos por la ferropenia, posiblemente por disfunción de las enzimas celulares que contienen Fe (4).

El “Síndrome de las piernas inquietas”, caracterizado por la necesidad imperiosa de mover las piernas y por la presencia de sensaciones molestas o disestesias que empeoran cuando se está en reposo, durante el atardecer y por la noche, se debe a una disfunción dopaminérgica en determinados momentos del día en el que la carencia de hierro actúa como un agente causal relevante. La ferropenia favorece el descenso de dopamina, y en aproximadamente la mitad de los pacientes con dicho síndrome existe hipoferritinemia; al parecer no se trata sólo de un problema de almacenamiento del hierro sino también de un problema en alguna de las proteínas que intervienen en la reutilización del hierro, por lo que “el problema es más complicado que una simple anemia” (5). Esta patología es más frecuente en mujeres y a partir de los 35-40 años y los síntomas empeoran por la noche dificultando el sueño nocturno.

Otros síntomas específicos de ferropenia en casos crónicos y graves son: pica-pagofagia (deseo de ingerir polvo, pintura, hielo...), inflamación de lengua, labios y mucosa de la boca (“glositis”, “queilosis”, y “estomatitis angular” respectivamente) y uñas cóncavas en “forma de cuchara” (coiloniquias), y más raramente, dificultad para deglutir debida a la formación de una membrana esofágica (*Síndrome de Plummer-Vinson*).

c) Síntomas debidos al proceso o patología subyacente:

En algunos pacientes existen síntomas que orientan hacia una patología orgánica de base, bien gástrica (molestias epigástricas, “ardores”),

bien intestinal (cambios en el hábito intestinal, sangrado rectal...) que obligarían a investigar una posible patología gastro-intestinal, incluyendo cáncer.

Es imprescindible investigar en profundidad cualquier tipo de hemorragia padecida por los pacientes con ferropenia –y por las que muchas veces no han efectuado consulta médica– (hemorragias nasales, vaginales, urinarias, rectorragias...).

El llamado síndrome general orgánico (pérdida de peso + astenia + anorexia) debe hacer pensar en un tumor maligno.

Existen enfermedades hereditarias que conllevan anemia ferropénica como la Enfermedad de *Peutz-Jeghers* (con pólipos intestinales que pueden ser potencialmente malignos y máculas hiperpigmentadas alrededor de labios y boca), o la Enfermedad hereditaria de *Rendu Osler* (con sangrado por las fosas nasales (*epistaxis*) y dilataciones capilares en labios (telangiectasias).

El déficit de Vitamina C (que provoca el *Escor-buto*) disminuye la absorción del hierro en el intestino e interfiere con el metabolismo del ácido fólico, por lo que la Deficiencia de Vitamina C se suele asociar a anemia por falta de hierro y fólico, anemia agravada además por la sintomatología propia del Escorbuto (hemorragias cutáneas, encías inflamadas y de sangrado fácil, hemorragias internas), que obliga a tratar a estos pacientes con Vitamina C + Hierro+ Ácido Fólico (24).

¿Qué otras alteraciones del metabolismo del hierro nos preocupan?

En el diagnóstico diferencial de las anemias microcíticas hay que tener en cuenta los defectos en el transporte del hierro, en la utilización del hierro y en la biodisponibilidad del hierro (Tabla IV).

La anemia inflamatoria o anemia asociada a las enfermedades crónicas es la segunda causa de anemia más frecuente en el mundo después de la anemia ferropénica debida a las pérdidas de hierro (4, 9, 12). Este tipo de anemia, que también es hipocrómica, se produce como consecuencia de la activación de mediadores que regulan la respuesta inflamatoria y del sistema inmunológico humano y conlleva una disminución de la biodisponibilidad del hierro necesario para la formación de glóbulos rojos (eritropoyesis). Los hallazgos clínicos son habitualmente los de la enfermedad subyacente (infección, inflamación o cáncer) y el tratamiento más importante en este tipo de "anemia inflamatoria" es el de la enfermedad de base.

Hasta hace unos años sólo se conocían tres proteínas fundamentales que intervienen en el metabolismo del hierro (transferrina, ferritina

y el receptor de transferrina), pero en los últimos años se han detectado varios factores genéticos y péptidos nuevos implicados en la regulación del hierro. Entre ellos destaca la Hefcidina, péptido que disminuye la absorción del hierro en el intestino cuando se produce sobrecarga de hierro o ante estímulos patogénicos como la inflamación y determinados procesos infecciosos. El aumento de Hefcidina en respuesta a la inflamación puede actuar como estrategia defensiva en el organismo humano al impedir el acceso de los microorganismos infecciosos al hierro que necesitan para su crecimiento y proliferación (9, 11).

El exceso de Hefcidina puede conducir a una anemia hipocrómica (anemia de la inflamación, anemia de enfermedades crónicas) y su déficit a la sobrecarga de hierro (9, 11, 12, 13).

Tabla IV. Diagnóstico diferencial de la anemia microcítica (Adaptada de 4)

	Ferropenia	Defecto transporte de Fe (Atransferrinemia)	Defecto utilización de Fe (Hemoglobinopatía, Talasemia, Anemia Sideroblástica o Mielodisplásica)	Defecto biodisponibilidad de Fe (Anemia de la inflamación y de las enfermedades crónicas)
Sangre periférica	M>H	M>H	M>H Células en diana policromatófilas Hematíes punteados	M>H
Sideremia	↓	↓	↑	↓
Capacidad de fijación del Fe	↑	↓	N	↓
Saturación Transferrina (%)	<10	0	>50	>10
Ferritina sérica*	<12	–	>400	30-400
**Ferritina eritrocitaria	<5	–	>50	5-45
Hierro medular	Ausente	Presente	↑ Sideroblastos en anillo	Presente

M= Microcitosis H= Hipocromía ↓ = Bajo ↑ = Alto N = Normal

*Ferritina sérica: valor normal 30-300 ng/mL ** Ferritina eritrocitaria: valor normal 5-48 atogramos/hematíe

Patología por sobrecarga férrica

La enfermedad más importante por sobrecarga de hierro es la hemocromatosis, que está considerada como la enfermedad genética más frecuente en la población humana de origen caucásico (9); es un trastorno hereditario del metabolismo del hierro que produce un aumento de su absorción intestinal y un depósito anormal, excesivo y progresivo del hierro en distintos órganos y fundamentalmente en el hígado, conduciendo a lesión de los mismos. Se ha descrito que la HfeC1H1 está implicada en el origen y desarrollo de la Hemocromatosis tipo 1, ligada a determinadas mutaciones genéticas (4, 9, 11, 12, 13).

Impacto en la población laboral de la Ferropenia y otras alteraciones del metabolismo del Fe

Muchos trabajadores que se encuentran en activo y que padecen ferropenia atribuyen erróneamente al estrés laboral o a la carga de trabajo síntomas que se presentan por la anemia o que se acentúan a consecuencia de la misma (cansancio, debilidad, cefalea, fatigabilidad, irritabilidad, ánimo depresivo...) y permanecen sin diagnosticar durante largos periodos de tiempo hasta que el empeoramiento franco de los síntomas iniciales les conduce a la consulta médica. (Tabla V).

La fatiga, o falta de energía y somnolencia, refleja a menudo exceso de trabajo, pero también puede ser un indicador importante

de la existencia de una deficiencia nutricional, siendo la más común la de hierro (asociada o no a otros déficits de vitaminas como Fólico, vitaminas del grupo B etc.).

Una de las consecuencias más relevantes de la ferropenia y la anemia ferropénica es la disminución en la capacidad para trabajar y el descenso del rendimiento físico e intelectual en el trabajo.

Los síntomas más comunes en la población laboral incluyen: lentitud, bajas defensas, baja resistencia al esfuerzo, disminución de la productividad relacionada con las tareas repetitivas y descenso de la productividad laboral en relación a las tareas intelectuales o con altas exigencias mentales (cualitativas y cuantitativas).

El "Síndrome de las piernas inquietas es un proceso en el que el déficit férrico altera el funcionamiento dopaminérgico, afecta más frecuentemente a mujeres a partir de los 35-40 años, con empeoramiento nocturno de los síntomas, deterioro de la cantidad y calidad del sueño nocturno y su potencial repercusión negativa en las actividades laborales diarias.

En el ámbito laboral, la ferropenia conlleva importantes consecuencias socioeconómicas: la Organización Mundial de la Salud (OMS) informa de un 17 a un 30 por ciento de disminución en el rendimiento y en la capacidad para el trabajo físico o trabajo manual pesado y de una pérdida del 5 por ciento de productividad en las tareas intelectuales y de alta exigencia mental, debidas a la ferropenia.

Tabla V. Síntomas comunes en población laboral con ferropenia/anemia

Disminución de la capacidad para trabajar
Lentitud
Bajas defensas
Menor resistencia al esfuerzo
Disminución de un 17-30% de la capacidad para el trabajo físico o manual pesado
Disminución de la productividad en tareas repetitivas
Pérdida de hasta un 5% de productividad en tareas intelectuales y de alta exigencia mental
Incremento absentismo

Y las deficiencias en micro-nutrientes representan una pérdida del 2 al 3 por ciento del PBI en los países en vías de desarrollo.

El “Informe sobre la Salud Mundial 2002” de la OMS (19) informó que, en relación con el coste, son muy efectivos los programas para reducir el riesgo de las enfermedades no transmisibles, incluidas las alteraciones del metabolismo del Fe, mediante el fomento de una dieta equilibrada y los cambios de hábitos nocivos por hábitos “saludables”. Estos programas deben ser introducidos en el contexto de la Prevención de Riesgos Laborales a través de los Médicos Especialistas en Medicina del Trabajo que realizan la Vigilancia de la Salud de los trabajadores, pudiendo jugar un importante papel en la prevención y promoción de la salud de los mismos. El Médico del Trabajo también debe participar activamente en la detección precoz y diagnóstico diferencial de las “anemias inflamatorias” y sus causas subyacentes (inflamación, infección, cáncer) en todos los trabajadores de riesgo y debe desarrollar procedimientos de estudio y seguimiento

médico laboral específicos para la vigilancia de la salud de aquéllos que desempeñan tareas con productos químicos con potencial tóxico radiactivo y/o carcinógeno, y agentes biológicos patógenos de humanos.

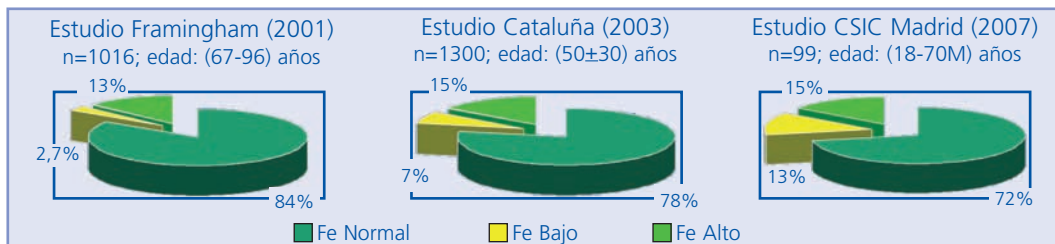
Por otro lado, también es necesario estudiar las situaciones de sobrecarga férrica en la población trabajadora, pues aunque los estudios por deficiencia férrica han monopolizado hasta hace pocos años las investigaciones sobre el Fe, son numerosas las publicaciones recientes que están detectando una importante prevalencia de las alteraciones por sobrecarga férrica y que requieren ser investigadas en el momento actual (9, 10, 11, 14) (Figura 2).

Por todo ello, se considera necesario profundizar en el estudio de las alteraciones del metabolismo del hierro en la población trabajadora, mediante un nuevo abordaje en la Medicina del Trabajo y la Vigilancia de la Salud de los trabajadores, a través de un estudio de Evaluación de Impacto en la Salud (EIS) (8) siguiendo los criterios de la OMS (Tabla VI).

Tabla VI. Fases para el estudio EIS (Evaluación Impacto Salud) (6, 8, 19)

- 1ª) “*Screening*”: primera valoración sobre si la intervención objeto del estudio puede ocasionar algún impacto en la salud y qué aspectos de ésta podrían ser más afectados por la intervención
- 2ª) “*Scoping*”: planificar; determinar las cuestiones más relevantes de salud que tendremos que tener en cuenta en la fase 3ª:
- 3ª) “*Appraisal or assesment*”: cuantificar el potencial impacto sobre la salud y el bienestar de la población afectada
- 4ª) “*Adjusting the proposed decision or intention*”: estrategias para que los gestores adopten las recomendaciones indicadas por el informe resultante de la EIS
- 5ª) “*Monitoring and evaluation*”: evaluar si las recomendaciones propuestas en la EIS se han realizado de modo efectivo y si han logrado un efecto positivo sobre la salud. En caso de respuesta negativa, se debe analizar por qué dichas recomendaciones no se implantaron o por qué si se implantaron no consiguieron el efecto positivo esperado.

FIGURA 2 | Alteraciones del Hierro. Impacto en la Población Laboral



Algoritmo para el estudio de la ferropenia y otras alteraciones del metabolismo del hierro en los trabajadores y su medio laboral (a través de Unidad de Medicina del Trabajo/ Salud Laboral y Vigilancia de la Salud de los trabajadores)

Objetivos

- 1) Facilitar una Evaluación de Impacto en la Salud (EIS) de las alteraciones del hierro en una población de trabajadores, siguiendo los criterios de la OMS, fundamentalmente en la fase 3ª) “*Appraisal or assesment*” (cuantificar el potencial impacto sobre la salud y el bienestar de la población trabajadora afectada).
- 2) Integrar el análisis de las alteraciones de la homeostasis del Hierro en los protocolos de vigilancia sanitaria específica y vigilancia de la salud para trabajadores con riesgos potenciales en sus puestos de trabajo (fundamentalmente aquéllos que efectúan tareas de riesgo químico/ tóxico, físico –incluyendo radiaciones ionizantes, trabajos en altura, maquinaria peligrosa etc.– y/o biológico).
- 3) Diseñar estrategias de prevención (prevención primaria y secundaria) y promoción de la salud en el medio laboral.

Metodología

Se propone integrar en los Protocolos de vigilancia sanitaria específica, para su aplicación a todos los trabajadores en el ámbito de la Medicina del Trabajo y la Vigilancia de la Salud y específicamente para aquéllos que efectúan tareas en puestos de potencial riesgo (químico, biológico, físico –incluyendo radiaciones ionizantes –categorías A y B de RD 783/2001),

un estudio analítico en sangre que incluya sistemáticamente, además del estudio bioquímico y hematológico, la determinación de: Hierro sérico, Ferritinemia, Transferrina, Índice de Saturación de la Transferrina (IST) (Hierro sérico/ Capacidad de fijación total del Fe x100), Reticulocitos, Proteinograma completo con Inmunoproteínas IgA, IgG e IgM, y al menos dos parámetros como reactantes de fase aguda: VSG (Velocidad de sedimentación globular) y Proteína C Reactiva. Asimismo, se realizará en todo caso estudio sistemático de orina con sedimento urinario.

En la práctica, una anemia con hipoferritinemia es diagnóstico de anemia ferropénica, pero la ferritinemia también es un reactante de fase aguda que se puede elevar por la inflamación, infección y el cáncer; también puede elevarse por la obesidad y la diabetes, dado que en ambos existen procesos inflamatorios subyacentes; por este motivo, pueden existir errores de apreciación sobre una ferritinemia supuestamente “normal”.

Estudios recientes en 2006 (20) han demostrado que las mujeres adultas obesas presentan un mayor déficit de Fe frente a las no obesas, por lo que se propone analizar el Receptor de la Ferritina, que no se altera ni por la inflamación ni por la obesidad ni por la diabetes, por ser éste un buen marcador sérico para detectar la deficiencia de Fe en mujeres obesas.

En la Historia clínico laboral se detallarán antecedentes personales patológicos, antecedentes laborales, puesto actual y puestos previos: descripción de puesto, fechas, antigüedad, evaluación de riesgos, tipo de riesgo y tipo de tareas, accidentes o incidentes y medidas de protección usadas. En trabajadores con riesgo químico se valorará efectuar control analítico biológico específico en aquéllos que trabajen con productos tóxicos susceptibles de inducir anemia (Tabla VII).

La valoración nutricional básica debe formar parte de los exámenes de salud realizados por los Especialistas en Medicina del Trabajo y Vigilancia de la Salud en el ámbito laboral, así como de los estudios epidemiológicos que permitan la detección de personas de riesgo, pues reflejan si es adecuado o no el resultado del aporte, absorción y utilización de los nutrientes. Dicha valoración incluirá el estudio de los compartimentos proteico y graso y determinaciones del estado de inmunidad (15). (Figura 3).

Tabla VII. Listado no exhaustivo de riesgos químicos susceptibles de inducir anemia

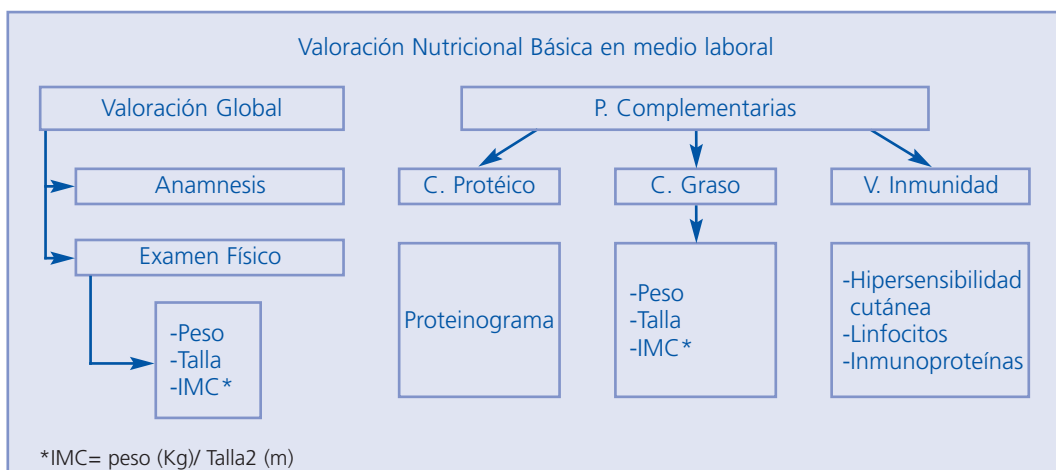
Trinitrotolueno
Aceites de motores
Naftalina
1-Metil Naftalina y 2-Metil Naftalina
Benceno
1-2 Dicloropropano
Plomo
Metilmercaptano
Dinitrobenceno
1,3,5 Trinitrobenceno

En la exploración física se han de registrar sistemáticamente los datos antropométricos: talla (m), peso (Kg), y el Índice de Quetelet o Índice de Masa Corporal (IMC): peso (Kg)/Talla² (m) por ser el que mejor se correlaciona con la proporción de grasa corporal (Tabla VIII).

Tabla VIII. Clasificación del IMC (criterios OMS)
(IMC= peso (kg) /talla² (m))

- < 16: Criterio de ingreso
- 16 a 17: Infrapeso
- 17 a 18: Bajo peso
- 18 a 25: Peso normal (Saludable)
- 25 a 30: Sobrepeso (Obesidad grado I)
- 30 a 35: Sobrepeso crónico (Obesidad grado II)
- 35 a 40: Obesidad premórbida (Obesidad grado III)
- >40: Obesidad mórbida (Obesidad grado IV)

FIGURA 3 | Algoritmo para el estudio de ferropenias en entorno laboral de riesgos específicos (Metodología)



En la anamnesis, anotaremos, además de las enfermedades y síntomas presentes, la dieta habitual que realiza el trabajador (déficit de la ingesta de algún nutriente etc.), actividad física, y otras que puedan influir en la nutrición del trabajador (origen geográfico, satisfacción o no con la situación laboral, disfunción en las relaciones personales, laborales y familiares).

En la malnutrición disminuye el número total de linfocitos T, sin alteración de los linfocitos B ni las inmunoglobulinas-, los factores de complemento C1, C2, C3 y C5 descienden en la malnutrición, con normalidad en C4 (15).

Según informó la Comisión de las Comunidades Europeas en el "*Libro verde*" para fomentar una alimentación sana y la actividad física como prevención de las alteraciones del peso corporal y las enfermedades crónicas (16), el lugar de trabajo constituye un lugar privilegiado para fomentar una alimentación sana y la práctica de una actividad física y para fomentar los cambios necesarios en los hábitos de vida; los Especialistas en Medicina del Trabajo deberían incluir en los estudios médico laborales recomendaciones sobre ambos aspectos de modo individualizado en cada trabajador, según el tipo de puesto y tareas, actividad extralaboral, enfermedades presentes y antecedentes patológicos y su estado actual de salud. De la misma manera, aquellas empresas cuyos comedores ofrecen opciones dietéticas saludables y un entorno propicio a la práctica de una actividad física (por ejemplo, poniendo a disposición duchas y vestuarios), pueden contribuir de modo importante a la promoción y prevención de la salud en el lugar del trabajo (16, 17).

Conclusiones

1. Las alteraciones del metabolismo férrico tienen una alta prevalencia por defecto y por exceso.
2. Constituyen un problema de salud pública con potencial impacto en la salud laboral, que debe ser estudiado de un modo integral, especialmente en puestos con riesgo.
3. Los Servicios de Medicina del Trabajo son idóneos para la detección precoz de las alteraciones del hierro y la promoción de hábitos de vida saludables.
4. La integración del estudio del hierro dentro de los procedimientos de la Vigilancia de la Salud específica en medio laboral puede ser rentable desde el punto de vista Coste/Beneficio en prevención de patologías prevalentes.

Bibliografía

1. Bilbao Garay, J. (2006). Anemias carenciales I: anemia ferropénica. *Inf Ter Sist Nac salud*. 30: 35-41.
2. IMMPaCT: Micronutrient Facts / DNPAO /CDC www.atsdr.cdc.gov/nccddphp/dnpa/impact/micronutrient_facts.htm (última entrada 10-10-2007).
3. Juncà, J. (2001). Un algoritmo diagnóstico para la ferropenia. *Med Clin (Barc)* 116: 146-149.
4. The Merk Manual (1999). 10ª edición en español correspondiente a la 17ª edición original, Ed Harcourt España S.A; 127: 853-887.
5. García Borreguero (2007) "Piernas inquietas, una alteración del hierro que se tratará con un parche". *Diario Médico* (11-01-2007) pag 17.
6. Taylor L. (2002). *Introducing health impact assesment: informing the decision making process*. London: Health Development Agency.
7. OMS Regional Comittee for Europe, Fyfty-second session (2002). Technical briefing health impact assessment. A tool to include health on the agenda of other sectors. Copenhagen 2002. Disponible en <http://www.euro.who.int/document/rc52/ebd3.pdf> (última entrada 10-10-2007).
8. Boldo E, Aragonés N, Medina S y col. (2005): Evaluación de Impacto en salud: una herramienta infrutilizada en Salud pública. Ejemplo *Apheis*. Boletín epidemiológico Semanal. Instituto de la Salud Carlos III, Ministerio de Sanidad y Consumo: vol 13 nº 9/ 97-108.
9. Del Castillo Rueda A., De Portugal Alvarez J. (2003). Hepcidina, una nueva proteína en la homeostasis del hierro. *An Med Interna (Madrid)* 20: 605-606.

10. Fleming DJ, Jaques PF, Tucker KL, Massaro JM, D'Agostino RB, Wilson PW et al. (2001). Iron status of the free-living, elderly Framingham Heart Study cohort: an iron-replete population with a high prevalence of elevated iron stores. *Am J Clin Nutr*; 73: 638-646.
11. Zúñiga Cabrera A, Orera Clemente MA (2002). Genética de las sobrecargas férricas. *An Med Interna (Madrid)* 19: 195-201.
12. Weinstein DA, Roy CN, Flemig MD et al. (2002). Inappropriate expresión of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood* 100: 3776-3781.
13. Bridle KR, Frazer DM, Wilkins SJ, Dixon JL, Purdie DM, Crawford DHG et al. (2003). Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet* 361: 669-673.
14. Altés Hernández A. (2003). Sobrecarga férrica. Algo más que hemocromatosis hereditaria. *Med Clin (Barc)* 120: 704-706.
15. Martínez Usó, Civera Andrés M. (2002). Protocolo diagnóstico de la malnutrición. *Medicine* 8 (87): 4717-4719.
16. Comisión de las Comunidades Europeas (COM) (2005). Libro Verde. "Fomentar una alimentación sana y la actividad física: una dimensión europea para la prevención del exceso de peso, la obesidad y las enfermedades crónicas". Bruselas COM (2005).
17. EURODIET core report, op.cit. http://europa.eu.int/comm/health/ph_determinants/life_style/nutrition/report01_en.pdf (última entrada 10-10-2007).
18. AESA (Agencia Española de Seguridad Alimentaria) (2007). "Dietas milagro" para adelgazar: sin fundamento científico y con riesgo para la salud. <http://www.aesan.msc.es/aesa/web/AesaPageServer?idpage=89&idcontent=7239> (última entrada el 27/09/2007).
19. OMS (2002). "Informe sobre la Salud Mundial 2002" de la Organización Mundial de la Salud.
20. Lecube Albert, Simó R, Hernández C. (2006). "Primera asociación del déficit férrico y la obesidad en adultos". *Obesity* 14: 1724-1730 *** (verificar título en inglés en el original).
21. Hábitos de salud en la población juvenil de la Comunidad de Madrid. Boletín Epidemiológico de la Comunidad de Madrid (2006). Nov. 2006-12 (11): 6-15.
22. Evaluación del impacto en salud: una herramienta infrautilizada en salud pública. Boletín epidemiológico semanal del Centro Nacional de Epidemiología. Instituto Carlos III (Ministerio de Sanidad) (2005): 13 (9): 97-108.
23. Nutrition for Everyone: Iron Deficiency / DNPAAO / CDC www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/nutrition/nutrition_for_everyone/iron_deficiency www.cdc.gov/spanish/CDC_servicio/profesionales.html (última entrada 10-10-2007).
24. Bilbao Garay J. (2006). Anemias Carenciales II: anemia ferropénica. *Inf Ter Sist Nac salud*. 30: 35-41
25. ATSDR – CSEM- Benzene Toxicity: Physiologic Effects. www.atsdr.cdc.gov/HEC/CSEM/benzene/physiologic_effects.html (última entrada 10-10-2007).
26. ATSDR–ToxFAQs: Plomo www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts13.pdf (última entrada 10-10-2007).



Capítulo 11

Detección de mutaciones
y su implicación en
estados patológicos
del metabolismo del hierro

Capítulo 11

Detección de mutaciones y su implicación en estados patológicos del metabolismo del hierro

Eduardo Arroyo¹, M^a Pilar Vaquero²

¹Laboratorio de Genética Forense y Genética de Poblaciones.
Departamento De Toxicología y Legislación Sanitaria.
Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

²Departamento de Metabolismo y Nutrición. Instituto del Frío.
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid.

Resumen

El hierro es un mineral imprescindible para la vida que se ingiere con la dieta y que en cantidades elevadas resulta tóxico. Debido a ello, el organismo humano está genéticamente programado para absorber bajas cantidades, si bien este delicado equilibrio puede romperse, produciendo un exceso o una carencia de hierro. En el control de este sistema intervienen por lo menos una docena de genes, aunque cada vez son más los que parecen intervenir pese a no saberse a ciencia cierta la relación causal que les une. Todo esto ha llevado a postular la existencia de una base genética de las disfunciones del metabolismo del hierro. Dado que la mencionada base genética pretende ser demostrada mediante las nuevas técnicas de genotipado masivo (SNPlex, arrays, etc.) y el ulterior análisis de datos, el presente capítulo pretende describir el estado de la cuestión y apuntar algunas posibles estrategias para dirimir la realidad o no de dicha base genética.

Abreviaturas: CNV, *Copy Number Variants* o variantes por número de copias; DMT-1, transportador de metales divalentes; HAMP, gen de la hepcidina; HCP-1, proteína transportadora hémica 1; HFE; gen de la hemocromatosis; HH, hemocromatosis; HJ, hemocromatosis juvenil; HJV, gen de la hemojuvelina; DHPLC, *Denaturing High Pressure Liquid Chromatography* o cromatografía desnaturalizante de alta resolución; SSCP, *Single Stranded Conformation Polymorphism* o polimorfismo de conformación de monohebras; pb, pares de bases; PCR, *Polimerase Chain Reaction* o reacción en cadena de la polimerasa; SNP, *Single Nucleotide Polymorphism* o polimorfismo de un único nucleótido; Tf, gen de la transferrina.

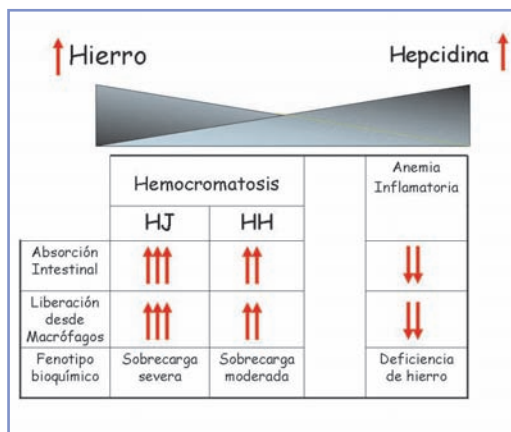
Introducción

El hierro es un mineral imprescindible para la vida y que se encuentra en casi todos los organismos vivos, pero que en cantidades elevadas resulta tóxico. En la especie humana, el contenido total de hierro es de 40-50 mg por kg de peso.

De este total, entre el 60 y el 70 % forma parte de la hemoglobina, el 15% forma parte de la mioglobina y enzimas diversas (catalasas, peroxidases, oxigenasas, etc.) y el 20-30% restante se encuentra en diversos depósitos. Sólo una pequeña cantidad –el 0,2% o entre 3 y 5 mg– se halla en estado circulante unido a la transferrina.

El proceso digestivo constituye el principal regulador fisiológico del hierro corporal dado que una vez absorbido los mecanismos para excretarlo son ineficaces. Por ello, el organismo humano está genéticamente programado para absorber bajas cantidades y mantener bastante constante el hierro corporal. Este delicado equilibrio puede romperse, produciendo un exceso o una carencia de hierro, de manera que los individuos con trastornos del metabolismo del hierro, es decir, con sobrecarga o deficiencia, poseen mecanismos de absorción alterados. En general, el exceso de hierro puede conducir, por ejemplo, a patologías como hemocromatosis mientras que la deficiencia del mismo conduce a la anemia. En el extremo correspondiente al exceso de hierro, cuya mejor representación es la típica hemocromatosis hereditaria (HH), es sobradamente conocida la relación entre la hemocromatosis del adulto y la existencia de ciertas mutaciones como C282Y y/o H63D (1-3). Además de la HH, existen situaciones patológicas en las que se da una sobrecarga férrica secundaria (hemocromatosis secundaria), que constituye una complicación severa de la enfermedad con manifestaciones clínicas superponibles a la HH. Estas patologías por sobrecarga entran en la clasificación de enfermedades raras (prevalencia estimada 1/1.000 personas). Por su parte, la deficiencia de hierro es la antesala de la anemia ferropénica y constituye un problema de salud pública a nivel mundial (4). Como casi todas las enfermedades de proporciones epidémicas, tiene una causalidad multifactorial, desempeñando papeles destacados la alimentación, género, situación fisiológica y genotipo.

FIGURA 1 | Espectro de patologías del metabolismo del hierro con la hepcidina como elemento central (5). HJ, Hemocromatosis juvenil; HH, hemocromatosis hereditaria.



Desde el punto de vista genético, y mientras no se disponga de datos concretos, la deficiencia de hierro debe ser considerada una alteración multigénica.

Pecando quizás de una esquematización excesiva, algunos autores han intentado sintetizar las situaciones de exceso y defecto de hierro a modo de los extremos opuestos del amplio espectro de fenotipos posibles dentro de los desordenes del metabolismo del hierro (5) (ver Figura 1). Cuando el individuo se sitúa en el centro de este espectro, dentro del rango de fenotipos no patológicos, decimos que dicho individuo mantiene su homeostasis.

Genes implicados en el metabolismo del hierro

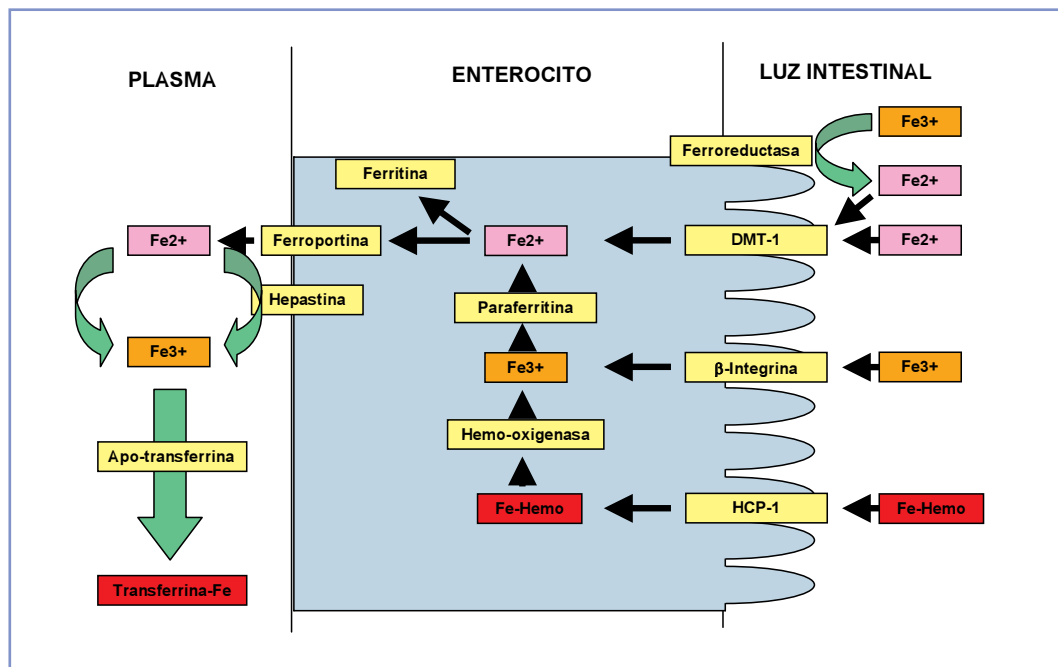
En promedio se absorbe aproximadamente el 10% del total de hierro ingerido, debido a que el individuo sano tiene escasas necesidades de hierro. Factores como la ingesta del micronutriente, sus depósitos, la hipoxia tisular y la presencia de determinados componentes de los alimentos, pueden favorecer o no la absorción.

La mayor parte del hierro presente en los alimentos está en forma inorgánica, sales ferrosas y férricas, y este hierro es muy sensible a inhibidores como por ejemplo: el ácido fítico y ciertos polifenoles, que lo insolubilizan e impiden su transporte a través de los enterocitos. Por el contrario, el hierro orgánico del núcleo hemo, presente en los alimentos de origen animal, es mucho más inerte frente a inhibidores, absorbiéndose el 25-40% independientemente del conjunto de la comida que lo aporta. La Figura 2 presenta un esquema de la absorción intestinal del hierro (6).

Durante los últimos años, a raíz del estudio de la hemocromatosis juvenil, algunos autores han postulado el papel central de ciertas proteínas hasta ahora no implicadas en desórdenes del hierro, como son los de la hepcidina (7, 8) y la hemojuvelina (5, 8). Algunos de ellos han indicado la posible asociación en la

mayoría de los casos entre la HH juvenil, el locus de la hepcidina y el locus de la hemojuvelina (9). El gen de la hemojuvelina, también llamado HFE2 y más recientemente HJV, tiene 4265 pb y 4 exones y se expresa en numerosos tejidos: análisis por *northern blot* han demostrado la presencia de mRNA de hemojuvelina en músculo esquelético, hígado y corazón (5), si bien en los últimos años se ha demostrado que la expresión es más amplia (10). Se transcribe en forma de un mRNA que presenta varios puntos de "splicing" alternativo, los cuales generan 3 isoformas de 426, 313 y 200 aminoácidos. Al parecer, la hemojuvelina carece, por el momento, de función conocida precisa, pero se cree que tiene un papel en la homeostasis del hierro debido a que los pacientes con mutaciones padecen sobrecarga de hierro y tienen bajos niveles de hepcidina (5, 11, 12). Estudios familiares parecen señalar también dicha relación (13).

FIGURA 2 | Esquema del metabolismo de la absorción de hierro (6). DMT-1, transportador de metales divalentes; HCP-1, proteína transportadora hémica 1.



Por otro lado, la hepcidina, codificada por el gen HAMP, es una pequeña hormona plasmática de 20-25 aminoácidos, proveniente de un precursor más grande que, unida por puentes disulfuro, posee actividad anti-microbiana, y se expresa principalmente en el hígado (10). La hepcidina amortigua la absorción intestinal de hierro al tiempo que impide la liberación excesiva del hierro contenido en los macrófagos, uniéndose al transportador de la ferroportina, internalizándolo e induciendo su degradación (5, 14). Hasta hace poco se creía que un déficit de hepcidina conducía a elevados niveles de hierro plasmático y finalmente a una sobrecarga (Figura 1, en página 190).

Así las cosas, los recientes estudios han postulado provisionalmente un esquema de los trastornos del hierro en el que la hepcidina desempeña un papel central, regulado por la hemojuvelina en conjunción con otros factores (11). De acuerdo con esto, los niveles de hepcidina hepática parecen jugar un papel clave en la regulación de la absorción del hierro ingerido en la dieta. La expresión de la hepcidina está, por lo general, disminuida en HH, mientras que se encuentra muy elevada en la anemia crónica. Dicho de otro modo, niveles elevados de hepcidina producen una disminución de la absorción intestinal de hierro y unos macrófagos igualmente ricos en hierro. El cuadro correspondiente sería una anemia inflamatoria genérica. En el otro extremo del espectro estaría la sobrecarga de hierro producida por un déficit de hepcidina.

Los déficit de hepcidina difieren en el adulto y en el individuo joven: resultan moderados en el caso de la hemocromatosis del adulto y parecen provocar una absorción moderada y un contenido en macrófagos también moderado, produciendo una sobrecarga de hierro así mismo moderada. Sin embargo, en la hemocromatosis juvenil, ambos parámetros son más severos y la sobrecarga de hierro es también más severa. Dado que parece que la hemojuvelina modula los niveles de hepcidina,

puede decirse que aquélla incide directamente en el espectro fenotípico que acabamos de describir.

Variabilidad genética y estrategias de futuro

La variabilidad genética de los genes del metabolismo del hierro ha sido objeto de numerosos estudios poblacionales, en busca de mutaciones que han sido halladas primeramente en casos clínicos. Más recientemente, la hepcidina y la hemojuvelina se han estudiado con la misma estrategia pese a que más bien poco ha podido concluirse al respecto (15-18). Así, 162 mujeres con problemas de deficiencia de hierro presentaron sólo dos casos de heterocigosis en sus genes HAMP de la mutación I7V. Por si fuera poco, esta mutación, situada en el segmento del péptido líder sustituye dos aminoácidos bioquímicamente similares, de manera que resulta poco relevante para la funcionalidad del producto génico (19). En la actualidad, distintos grupos de investigadores están llevando a cabo el estudio de secuencias de genes HJV en individuos deficientes y con problemas de sobrecarga, no apareciendo una sola variante de la secuencia consenso. Así las cosas, todo parece apuntar a que los genes HAMP y HJV son secuencias muy conservadas, que admiten pocas alteraciones. Nuestro equipo de investigación ha comprobado que la mutación G277S del gen de la transferrina, de forma aislada, no explica diferencias en la absorción de hierro (medida por isótopos estables) de mujeres en edad fértil (20). Sin embargo, el estudio conjunto de distintos genes que se asocian con sobrecarga y con deficiencia (HFE, HAMP, Tf) ha demostrado la aparición de mutaciones asociadas posiblemente formando haplotipos. Así, se ha observado que la mujeres que presentan mayor número de mutaciones en los genes del metabolismo del hierro, parecen ser las que tienen peor estado de hierro (19) (ver Tabla I).

Tabla I. Mutaciones en los genes HFE, transferrina y HAMP de 162 mujeres trabajadoras. (-/-, homocigoto habitual; +/-, heterocigoto mutante; +/+, homocigoto mutante) (19)

Genotipos	Frecuencia (%)	Genes					
		HFE		Transferrina			HAMP
		282	63	247	268	277	7
1	41.4	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
2	1.2	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-
3	7.4	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-
4	0.6	-/-	-/-	+/-	+/-	-/-	-/-
5	0.6	-/-	-/-	+/-	+/-	+/-	-/-
6	4.94	-/-	-/-	+/-	-/-	+/-	-/-
7	0.6	-/-	-/-	+/+	-/-	-/-	-/-
8	1.2	-/-	-/-	+/+	-/-	+/-	-/-
9	24.7	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-
10	4.9	-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-
11	2.5	-/-	+/-	+/-	-/-	+/-	-/-
12	3.7	-/-	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-
13	0.6	-/-	+/+	+/-	-/-	+/-	-/-
14	3.7	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
15	0.6	+/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-
16	0.6	+/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-

Es necesario, por tanto, en primer lugar demostrar la existencia de mutaciones y, en segundo lugar, demostrar si existe o no asociación entre genotipos y fenotipos. A estos efectos deben emplearse diferentes estrategias.

Detección de mutaciones

El estudio de la secuencia del genoma humano ha hecho posible determinar en qué tipo de polimorfismos se encuentra la variabilidad

genética humana. Es comúnmente aceptado que el 85% de la variación humana se encuentra en polimorfismos de una única base o SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*); aproximadamente el 15% restante se encuentra en polimorfismos que difieren en el número de copias o CNV (*Copy Number Variants*). Dado que ambos tipos de variación genética no son solapantes, es necesario estudiar los dos si es que se quiere conocer la variabilidad genética humana en su conjunto.

Hoy día, existen más de 10 millones de SNPs conocidos y disponibles en bases de datos *on-line*. Sin embargo, en lo relativo al metabolismo del hierro, la situación es en muchos casos anterior al estudio de asociación de SNPs conocidos, ya que es necesario determinar con anterioridad la existencia de polimorfismos SNPs desconocidos. En definitiva, es necesario detectar mutaciones mediante técnicas diversas que varían en cuanto a costo y eficiencia. De entre todos los procedimientos conocidos, dos son los que proporcionan mejores rendimientos a la hora de detectar mutaciones en relación al gasto económico.

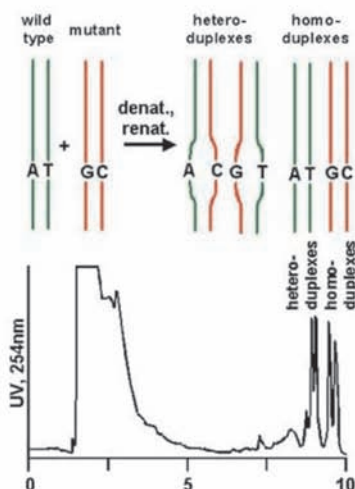
- a) DHPLC: Es una cromatografía de alta presión desnaturalizante (*Denaturing High Pressure Liquid Chromatography*), capaz de separar en una columna cromatográfica los fragmentos de ADN obtenidos por PCR, desnaturalizados y vueltos a renaturalizar (ver Figura 3). Los distintos cónformeros, disueltos en un disolvente conocido como fase móvil, interaccionan de distinta manera a su paso por la columna y salen de ella a distintos tiempos, donde son detectados por un mecanismo detector (ver Figura 3a).
- b) SSCP: Este procedimiento es conocido como polimorfismo de conformación de monohebras (*Single Stranded Conformation Polymorphism*). Los fragmentos de ADN con mutaciones son desnaturalizados y renaturalizados para ser corridos en una electroforesis. Los cónformeros mutantes y no mutantes –denominados genotipo salvaje o *wild-type*– presentan diferentes patrones de migración que son detectados mediante una tinción de sales de plata estándar o bien por el láser de un secuenciador (ver Figura 3b).

No hay que olvidar que este tipo de análisis sólo proporciona resultados del tipo mutante vs. *wild type* o, en otras palabras, sólo describe presencia/ausencia de mutaciones.

La confirmación de la mutación implica necesariamente secuenciar el fragmento, pero el análisis previo por técnicas como DHPLC o SSCP eliminan gran cantidad de individuos no mutantes que reducen enormemente el costo del estudio. Lógicamente, una vez detectado el SNP es necesario determinar la distribución de frecuencias de los alelos en la población.

Una vez establecida la herramienta y conocidos posteriormente los SNPs variantes, es necesario establecer la asociación. Básicamente, ésta consistirá en establecer un grupo control sano y contrastarlo con otro grupo que presente las características fenotípicas y patológicas previas determinadas por el investigador. Para ello puede elegirse dos estrategias diferentes:

- Estudio de asociación mediante estrategias de alto rendimiento: Este tipo de estrategia, conocida como “barrido genómico” (*Genome Wide Scan*) determina en ambos grupos –control y patológico– la presencia de cientos de miles de SNPs. La característica principal es que NO requiere hipótesis previas respecto al conjunto de genes implicados, dado que la asociación, si efectivamente se descarta todo tipo de artefacto estadístico y el experimento es reproducible, puede revelar relaciones causales desconocidas por el momento.
- Estudio de asociación mediante estrategias de bajo rendimiento: En este caso se escogen aquellos SNPs cuyos genes están directamente implicados en las patologías de la enfermedad de acuerdo con lo descrito en la bibliografía. El número de SNPs en este caso oscila entre apenas una docena –como en el caso de la tecnología SNaPShot (*Applied Biosystems*)– o un centenar, como sucede con tecnologías como SNPLex (*Applied Biosystems*) o *microarrays* de baja densidad.

FIGURA 3 | Diferentes estrategias de detección de mutaciones.**a) DHPLC****Muestras homocigotas:**

Un pico.

Muestras heterocigotas:

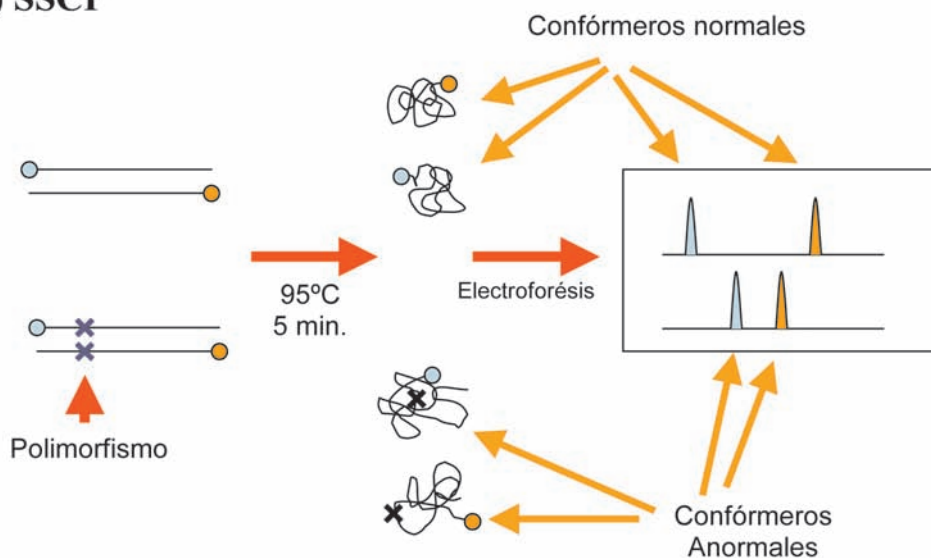
Picos con perfil característico a diferentes temperaturas.

Idealmente, se separan cuatro picos pero los perfiles dependen radicalmente de la temperatura y de la secuencia de ADN.

Para consultar una revisión, véase:

Xiao y Oefner

Hum. Mutat. 17(2001) 439.

b) SSCP

En ambos casos, constituye un problema el tamaño muestral de los grupos patológico y control, que tiene que proporcionar suficiente poder estadístico para no conducir a conclusiones erróneas o artefactuales.

Hasta la fecha no ha sido abordado ningún estudio de este tipo en el caso del metabolismo del hierro, de modo que está por determinar qué estrategia es la más recomendable a la hora de determinar la asociación entre los polimorfismos SNPs conocidos hasta el momento. Dado que es absolutamente esencial para este tipo de estudios determinar con claridad el genotipo, es posiblemente poco realista considerar grandes tamaños muestrales del orden de varios cientos e incluso el millar de individuos dentro del grupo patológico. Sin embargo, resulta interesante saber que el número de muestras humanas del panel CEPH, disponibles en el Instituto Jean Dausset de París, está tipado para 350.000 SNPs y es de libre disponibilidad. Esta posibilidad abre las puertas a posibles replicaciones sin costo y a la utilización de estos resultados como grupo control.

Sin embargo, el estudio de la base genética del metabolismo del hierro tiene que verse complementado por otro tipo de estudios que evidencien la importancia de los genes implicados y su regulación. Recientemente, ciertos polimorfismos del gen supresor tumoral SMAD4 han demostrado una incidencia directa en la sobrecarga de hierro (21). Por otro lado, la existencia de mutaciones en zonas reguladoras, como las que existen en el promotor del gen de transferrina, llevan a pensar que la búsqueda de variabilidad genética en exones puede ser una mala estrategia si se olvidan las regiones promotoras (22). En este sentido, los estudios de expresión tienen mucho que decir al respecto. Queda por tanto aún por decidir cuál es la estrategia más prometedora para aceptar o descartar la existencia de una base genética en las patologías del metabolismo del hierro.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido realizado al amparo del acuerdo marco (GENUTREN) entre el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, la Dirección General de Salud Pública y Alimentación de la Comunidad de Madrid y la Universidad Complutense de Madrid. Este trabajo ha sido parcialmente financiado con el proyecto de la Fundación Médica Mutua Madrileña FMMA-05 y el proyecto del Plan Nacional AGL2006-09519/ALI.

Bibliografía

1. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, Dormishian F, Domingo R Jr, Ellis MC, Fullan A, Hinton LM, Jones NL, Kimmel BE, Kronmal GS, Lauer P, Lee VK, Loeb DB, Mapa FA, McClelland E, Meyer NC, Mintier GA, Moeller N, Moore T, Morikang E, Prass CE, Quintana L, Starnes SM, Schatzman RC, Brunke KJ, Drayna DT, Risch NJ, Bacon BR, Wolff RK. (1996). A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 13: 399-408.
2. Merryweather-Clarke AT, Pointon M, Jouanolle AM et al (2000). Geography of HFE C282Y and H63 mutations. *Genet test* 4 (2): 183-98.
3. Beutler L, Beutler E. (2004). Hematologically important mutations: iron storage diseases. *Blood Cells Mol Dis* 33(1): 40-4.
4. Organización Mundial de la Salud (2007). <http://www.who.int/nutrition/topics/ida/en/index.html>
5. Papanikolaou G, Samuels ME, Ludwig EH, MacDonald ML, Franchini PL, Dube MP, Andres L, MacFarlane J, Sakellaropoulos N, Politou M, Nemeth E, Thompson J, Risler JK, Zaborowska C, Babakaiff R, Radomski CC, Pape TD, Davidas O, Christakis J, Brissot P, Lockitch G, Ganz T, Hayden MR, Goldberg YP. (2004). Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Gen* 36 (1): 77-82.
6. Navas-Carretero S. (2007). Mejora de la biodisponibilidad de hierro a través de alimentos tradicionales y funcionales. Factores nutricionales y genéticos en mujeres con deficiencia de hierro. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, 2007, Madrid.
7. Nicolas, G. et al (2003). Hcpidin, a new peptide hcpidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 33: 21-22.
8. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JJ, Bogdanos D, Tsimirika K, Macfarlane J, Goldberg YP, Sakellaropoulos N, Ganz T, Nemeth E (2005). Hcpidin in iron overload disorders. *Blood* 105(10):4103-4105.

9. Roetto A, Totaro A, Cazzola M, Cicilano M, Bosio S, D'Ascola G, Carella M, Zelante L, Kelly AL, Cox TM, Gasparini P, Camaschella C. (1999). Juvenile hemochromatosis locus maps to cromosoma 1q. *Am. J. Hum. Genet* 64: 1388-1393.
10. Martinez AR, Niemella O, Parkkila S. (2004). Hepatic and extrahepatic expresión of the new iron regulatory protein hemojuvelin. *Haematologica* 89 (12): 1441-1445.
11. Fleming RE. (2005) Advances in understanding the molecular basis for the regulation of dietary iron absorption. *Curr Opin Gastroenterol.* 2: 201-206.
12. Barton JC, Rivers CA, Niyongere S, Bohannon SB, Acton RT. (2004). Allele frequencies of hemojuvelin gene (HJV) 1222N and G320V missense mutations in white and African American subjects from the Alabaman population. *BMC Medical Genetics* 5: 29-43.
13. Wallace DF, Dixon JL, Ramm GA, Anderson GJ, Powell LW, Subramaniam N. (2005). Hemojuvelin (HJV)-associated hemochromatosis: analysis of HJV and HFE mutations and iron overload in three families. *Haematologica* 90 (2): 254-5.
14. Weinstein D, Roy CN, Fleming MD, Loda MF, Wolfsdorf JL, Andrews NC. (2002). Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implication for the anemia chronic disease. *Blood* 100 (10): 3776-3781.
15. Delatycki MB, Allen KJ, Gow P, MacFarlane J, Radomski C, Thompson J, Hayden MR, Goldberg YP, Samuels ME. (2004). A homozygous HAMP mutation in a multiply consanguineous family with pseudo-dominant juvenile hemochromatosis. *Clin Genet* 65 (5): 378-83.
16. Lanzara C, Roetto A, Daraio F, Rivard S, Ficarella R, Simard H, Cox TM, Cazzola M, Piperno A, Gimenez-Roqueplo AP, Grammatico P, Volinia S, Gasparini P, Camaschella C. (2004). Spectrum of hemojuvelin gene mutations in 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Blood* 103 (11): 4317-21.
17. Lee PL, Beutler E, Rao SV, Barton JC. (2004). Genetic abnormalities and juvenile hemochromatosis: mutations of the HJV gene encoding hemojuvelin. *Blood* 103 (12): 4669-71.
18. Majore S, Binni F, Pennese A, De Santis A, Crisi A, Grammatico P. (2004). HAMP gene mutation c.208T>C (p.C70R) identified in an Italian patient with severe hereditary hemochromatosis. *Hum Mutat* 23 (4): 400.
19. Sarria B, Lopez-Parra AM, Navas-Carretero S, Perez-Granados AM, Baeza C, Arroyo-Pardo E, Vaquero MP (2007). Hepcidin, transferrin (exon 7), and hemochromatosis genotyping suggests that haplotype block analysis is the best strategy for predicting iron deficiency phenotype in women. *Nutr Res* 27:672-678.
20. Sarria B, Navas-Carretero S, Lopez-Parra AM, Perez-Granados AM, Arroyo-Pardo E, Roe MA, Teucher B, Vaquero MP, Fairweather-Tait SJ. (2007). The G277S transferrin mutation does not affect iron absorption in iron deficient women. *Eur J Nutr* 46 (1): 57-60.
21. Wang RH, Li C, Xu X, Zheng Y, Xiao C, Zerfas P, Cooperman S, Eckhaus M, Rouault T, Mishra L, Deng CX. (2005). A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression. *Cell Metab* 2: 399-409.
22. Faniello MC, Fregola A, Nistico A, Quaresima B, Crugliano T, Faraonio R, Puzzon P, Baudi F, Parlato G, Cuda G, Morrone G, Venuta S, Costanzo F. (2007). Detection and functional analysis of an SNP in the promoter of the human ferritin H gene that modulates the gene expression. *Gene* 377: 1-5.

The background of the page features a light blue abstract design. On the right side, there is a stylized representation of a DNA double helix. Overlaid on this and the rest of the page are various geometric elements, including thin lines forming a grid or network, and several solid blue circles of different sizes scattered across the composition.

Capítulo 12

Fibra dietética y salud

Capítulo 12

Fibra dietética y salud

Baltasar Ruiz-Roso Calvo de Mora

Departamento de Nutrición, Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense de Madrid.

Resumen

Por fibra dietética (FD) entendemos el total de los polisacáridos de las plantas, junto con la lignina y otros polifenoles, que son resistentes a la hidrólisis por los enzimas digestivos del tracto gastrointestinal humano. La clasificación más adecuada desde el punto de vista nutricional de la FD es la de su solubilidad en agua. La fibra dietética soluble (FDS) incluye pectinas, gomas, mucílagos y ciertos tipos de hemicelulosas y polisacáridos de reserva de la planta; se caracteriza, porque gran parte de ella, sufre un proceso bacteriano de fermentación en el colon, con producción de hidrógeno, metano, dióxido de carbono y ácidos grasos de cadena corta que son absorbidos por el organismo y metabolizados, teniendo una relación estrecha con los procesos metabólicos del aparato digestivo, y cuyos efectos fisiológicos se asocian generalmente con la disminución del colesterol en sangre y con el control de la glucemia. La fibra dietética insoluble (FDI) está formada por celulosa, algunas hemicelulosas y ligninas, y se caracteriza por ser más resistente que la soluble a la fermentación de las bacterias colónicas e incrementar la masa fecal. El consumo de FD también se ha relacionado con la reducción del riesgo de neoplasia en el tracto gastrointestinal. El consumo recomendado de FD es de 30 g/día con un contenido en las fracciones soluble e insoluble de 40 y 60 % respectivamente.

Concepto de “fibra dietética”.

Fibra dietética (FD) es un material complejo de origen vegetal resistente a la digestión por los enzimas del tracto intestinal humano (1). De acuerdo con la American Association of Cereal Chemists (2), la FD consiste en la parte comestible de plantas o hidratos de carbono análogos, resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, pero que sufren una fermentación completa o parcial en el intestino grueso, dando lugar a compuestos que el organismo absorbe y metaboliza (3). La denominación de FD es, por tanto, genérica y abarca una serie de sustancias químicamente definidas, con propiedades físico-químicas peculiares y efectos fisiológicos individuales.

La FD está formada mayoritariamente por: celulosa, hemicelulosa, pectinas, lignina, carragenatos, alginatos y gomas (Tabla I, página 202). También están presentes asociados a la FD, otros componentes de las células vegetales, generalmente en pequeñas cantidades, y que pueden ser de importancia fisiológica, como son las proteínas de la pared celular, los polifenoles, las cutinas, el ácido fítico, algunos ésteres del ácido acético, los minerales y el almidón resistente (3, 4). Algunos de estos componentes tienen propiedades parecidas a las de la FD, y en concreto los polifenoles, se considera que podrían incluirse como constituyentes de la FD (5, 6).

Tabla I. Componentes y clasificación nutricional de la fibra dietética

Polisacáridos amiláceos	Polisacáridos no amiláceos solubles	Polisacáridos no amiláceos insolubles	Polifenoles y otros compuestos asociados a la pared celular
Almidón resistente (Tipos I y II) Almidón retrogradado	Gomas Mucílagos Pectinas Hemicelulosas	Celulosa Hemicelulosas	Lignina Cutina Taninos Suberina Fitatos Proteína Minerales Ca ²⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺
Fibra dietética soluble (FDS)		Fibra dietética insoluble (FDI)	

Tabla II. Contenido de fibra dietética de algunos alimentos (adaptado de Moreiras y col. 2006, (7))

VERDURAS, HORTALIZAS		LEGUMBRES		FRUTOS SECOS	
Espinacas	6,3	Alubias	25,4	Higos secos	18,5
Acelgas	5,6	Habas secas	19	Ciruelas secas	16,1
Guisantes	5,2	Guisantes secos	16,7	Almendra	14,3
Habas	4,2	Garbanzos	15	Avellana	10
Alcachofas	4	Lentejas	11,7	Dátiles	8,7
Coles y repollo	3,7			Cacahuets	8,1
Remolacha	3,1			Nueces	5,2
Judía verde	2,9	FRUTAS			
Zanahoria	2,9	Níspero	10,2	CEREALES, DERIVADOS	
Nabo	2,8	Membrillo crudo	6,4	Pan integral	8,5
Boniato	2,5	Aceituna	4,4	Pan blanco	2,2
Champiñón	2,5	Plátano	3,4	Pan blanco de molde	3,2
Coliflor	2,1	Higos y brevas	1,1	Corn flakes	2,5
Patata	1,2	Peras	2,3	All-bran	28
Cebolla	2	Fresa y fresón	2,2	Harina de trigo	3,4
		Albaricoque	2,1	Harina de maíz	3
		Ciruela	2,1	Arroz	0,2
		Manzana	2		
		Naranja	1,7		
		Mandarina	2,2		
		Chirimoya	2		

Fuentes y clasificación

El contenido de fibra de diferentes alimentos de origen vegetal se puede observar en la Tabla II.

La clasificación más adecuada de la FD, desde el punto de vista nutricional, es la de su solubilidad en agua (Tabla I). La fibra dietética soluble incluye almidón resistente, pectinas,

gomas, mucílagos y ciertos tipos de hemicelulosas y polisacáridos no amiláceos de reserva de la planta, existiendo proporciones elevadas de la misma, respecto al total de FD, en frutas (38%), verduras y hortalizas (32%) y legumbres (25%). La fibra dietética insoluble incluye celulosa, algunas hemicelulosas, lignina y otros polifenoles, como los taninos condensados. Predomina en las hortalizas, verduras, algunas leguminosas y cereales (2).

Efectos fisiológicos de la ingesta de fibra

La FD ejerce su influencia a lo largo de todo el tracto gastrointestinal, desde la ingestión hasta la excreción. El incremento de la masticación producida por la fibra, facilita el flujo de jugo gástrico, lo que unido al aumento en la secreción de saliva y a la hidratación de la FD, produce aumento de volumen, que acelera y mantiene por más tiempo la sensación de saciedad. Además, es un componente de la dieta de bajo contenido calórico, por lo que produce un efecto significativo de reducción de la ingesta energética (3). Sin embargo, según otros autores (8), estos efectos de la fibra sobre la reducción de la ingesta calórica son menos claros. Sobre la saciedad influye también la velocidad de vaciado gástrico. La FDS muy hidratable, como pectina o goma guar, producen geles que incrementan la viscosidad del contenido estomacal y retrasan el vaciado (3).

La FD incrementa la secreción de diferentes hormonas del tubo digestivo, tales como colecistoquinina, *glucagon-like peptide 1* (GLP-1), lo que también parece estar relacionado con el retraso del vaciado gástrico. Colecistoquinina se secreta por las células del intestino delgado tras la ingestión de alimento y estimula la secreción pancreática, regula el vaciado gástrico e induce saciedad a nivel central (9, 10). Pruebas en ratas también han mostrado que diferentes fibras solubles producen aumentos en los niveles circulantes de péptidos anorexígenos tales como GLP-1 y péptido YY, así como reducción de los niveles séricos de la hormona *grelin* (11).

La FD favorece el tránsito del quimo a través del intestino delgado, existiendo una relación directa entre el contenido de FD en la dieta y la velocidad a la cual los nutrientes transitan a lo largo del tracto gastrointestinal.

La fibra diluye el contenido intestinal y retrasa la absorción de nutrientes. Sin embargo, es en el colon donde ejerce sus efectos más importantes: diluir el contenido intestinal, ser sustrato para la flora bacteriana, captación de agua y fijación de cationes. El colon debe considerarse como un órgano doble. Por una parte, el colon ascendente y el ciego, donde se verifica la fermentación anaerobia de la fibra; por otra, el colon descendente y el sigmoide están implicados en el almacenamiento y continencia del bolo fecal (3).

Algunos componentes de la FD promueven cambios morfológicos en la mucosa, porque estimulan la proliferación celular, pero la importancia de este efecto varía mucho dependiendo del tipo de fibra estudiada. Se asume ampliamente que la fermentación por la microflora colónica de los polisacáridos no absorbidos juega un importante papel en la modulación del recambio celular intestinal. Cuando algún hidrato de carbono escapa de la digestión intestinal, es atacado por las bacterias del colon, produciéndose principalmente ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico y butírico) y otros gases (dióxido de carbono, hidrógeno y metano). El acético es el único de estos ácidos que alcanza la circulación sistémica y puede utilizarse como fuente de energía y en la lipogénesis; el ácido propiónico, se metaboliza en el hígado, es el único gluconeogénico de todos ellos y puede influenciar algunas facetas del metabolismo hepático, como la síntesis de colesterol, mientras que el butírico, es la mejor fuente de energía para el enterocito colónico, se utiliza a este nivel y muy poco alcanza al hígado. Una dieta exenta de fibra mantiene un patrón inmaduro de los villi (12).

En relación al tiempo que la masa fecal se almacena en el colon, existe una relación inversa entre su volumen y el tiempo que este material es retenido por el intestino grueso, debido a que la distensión provoca la estimulación de la motilidad del colon.

El colon humano contiene una abundante población de bacterias, principalmente anaerobias y sacarolíticas, con un peso de unos 170 g y pertenecientes a unas 400 especies diferentes, que actúan fermentando diferentes sustratos: la FD, oligosacáridos no absorbidos y mucinas. La capacidad de retención de agua de las heces está inversamente relacionada con la fermentación en el colon. Debemos tener en cuenta que la fracción indigestible de la fibra representa, si la ingesta de FD es adecuada, la mayor parte del peso fecal, y que las bacterias representan sólo una pequeña parte de los sólidos en las heces. Por tanto, a mayor fermentación de la fibra, menor volumen fecal. La fracción insoluble, cuyo componente mayoritario es la celulosa, es la responsable principal del peso fecal, es poco fermentable y aparece el 60% o más de la consumida en las heces, mientras que la FD soluble y el almidón resistente es muy fermentable entre el 80 y el 100% (3).

En relación a la influencia de la FD sobre la absorción de nutrientes, algunos autores han encontrado un ligero aumento en el nitrógeno fecal con dietas ricas en fibra. No obstante, dado que en los países industrializados el consumo de proteína está por encima del recomendado, y que la acción de la fibra sobre la proteína es en general pequeña, el aumento de la ingesta de fibra en estas poblaciones no supondría un problema nutricional para la población adulta (13). También la fibra puede disminuir la utilización nutritiva de diversos minerales, particularmente metales divalentes (Ca, Mg, Fe), debido principalmente a la aceleración del tránsito, dilución del contenido intestinal, incremento en la secreción endógena de minerales y a la retención de iones en la estructura de algunas fibras (14, 15).

También hay que tener en cuenta que la FD contiene fitatos, oxalatos, saponinas, taninos, etc., que pueden actuar disminuyendo la biodisponibilidad mineral. Por otro lado, la fibra dietética contiene minerales, y algunos de ellos pueden ser disponibles.

Quizá por estos motivos las repercusiones prácticas sobre el balance mineral del consumo de fibra en poblaciones humanas no están claras. En los casos en que exista una ingesta mineral baja junto con un consumo excesivo de fibra podrán aparecer deficiencias, pero éstas no se producirán si la dieta es adecuada (15).

Fibra dietética y lipemia

Una gran cantidad de publicaciones han indicado los efectos positivos en la reducción de los valores de colesterol sérico de una dieta baja en grasa y rica en fibra dietética soluble (16). En este sentido la ingesta de fibra soluble (leguminosas, salvado de avena, goma guar y pectina, entre otras), reduce de forma significativa el colesterol total y el LDL-colesterol en más del 80 de los trabajos publicados (17), aunque el efecto es modesto y no afecta el colesterol HDL ni los triglicéridos. Por el contrario, las fibras dietéticas insolubles contienen diferentes mezclas de pequeñas cantidades de compuestos con potencial actividad hipocolesterolemia, como los polifenoles, con otros productos mayoritarios, como celulosas, hemicelulosas, etc., de escasa o nula actividad (18). La celulosa no afecta a la colesterolemia en humanos, por lo que normalmente se la utiliza en los estudios como control o placebo. El salvado de trigo, que es muy rico en celulosa, también se ha usado como placebo en estudios con humanos (19).

Un componente minoritario de la fibra alimentaria de interés bioactivo, como hemos dicho, son los compuestos polifenólicos. Estos compuestos poseen importantes efectos antioxidantes, y algunos de ellos tienen efectos hipocolesterolemiantes (19). No obstante, los compuestos polifenólicos insolubles se encuentran en muy pequeña cantidad en la fibra de los vegetales que habitualmente consumimos y en los suplementos dietéticos comerciales de fibra, generalmente en porcentajes menores al 2 g por cada 100 g de fibra alimentaria (5).

En este sentido, la fibra vegetal alimentaria que tiene un porcentaje más alto de compuestos polifenólicos es la fibra de algarrobas, con un contenido cercano a 18 g de polifenoles por 100 g de pulpa de algarroba seca, estos polifenoles son taninos condensados (proantocianidinas), formados por grupos de flavan-3-ol y sus ésteres gálicos, ácido gálico, catequinas, epicatequin-galato, epigallocatequingalato, y glicósidos de quercetina. Esta fibra, tras un proceso de transformación, se ha comprobado experimentalmente que produce una reducción en los niveles de colesterol en ratas hipercolesterolémicas superior a la que produce la fibra soluble, posiblemente por romper con mucha mayor eficacia el ciclo enterohepático del colesterol (20). No obstante, su empleo en humanos con este fin es problemático por las cantidades elevadas de fibra de este tipo necesarias, en torno a 15 g/día, para producir efectos significativos (21). En este sentido se están desarrollando fibras de segunda generación, obtenidas a partir de extractos de diferentes fibras naturales como Exxenterol®, que utilizadas en cantidades mucho más pequeñas, en torno a 6 g/día, producen reducciones del 20% de los niveles de colesterol en sujetos hipercolesterolémicos (20). En relación a la influencia del consumo de fibra y los niveles de triglicéridos, la mayor parte de los estudios no encuentran influencia alguna, aunque hay algún resultado positivo con dietas con un nivel muy elevado de fibra soluble, por encima de 50 g/día (17).

El mecanismo de actuación de la fibra sobre los lípidos sanguíneos no está perfectamente establecido, aunque parece estar relacionado con su efecto saciante y un efecto variable sobre el secuestro de sales biliares y el retorno de colesterol al hígado (22). También se relaciona el efecto hipotrigliceridemiante de la fibra con su influencia en la absorción de glucosa y lípidos, el índice glucémico y el incremento en la secreción de incretinas (GIP y GLP-1). Sin embargo, son necesarios más estudios con el fin de clarificar estos mecanismos.

La fibra en el síndrome metabólico

La obesidad y la distribución anormal de la grasa con acúmulo abdominal, son las características principales del síndrome metabólico. Este hecho se asocia con la insulinoresistencia y puede ser muy perjudicial en la función cardiovascular. En diferentes estudios epidemiológicos se ha encontrado una correlación inversa entre ingesta de fibra, el peso y la grasa corporal. Por otra parte, también hay varios estudios publicados que indican que la suplementación con fibra reduce el peso corporal (23, 24).

La FD soluble en diferentes ensayos clínicos también ha demostrado su efecto en la reducción de los picos de las curvas de glucemia producidas por comidas ricas en hidratos de carbono (alrededor del 12%) y un moderado efecto en la reducción de la lipemia (25). Las dietas ricas en este tipo de fibra producen un aumento de la viscosidad del contenido intestinal, ya que son moléculas que captan agua y poseen la propiedad de formar geles, lo que disminuye el contacto del quimo gelificado con la mucosa intestinal y la tasa de digestión enzimática. En este caso concretamente se reduce la velocidad de acción de la α -amilasa pancreática que es la etapa limitante en la absorción de los polisacáridos, reduciéndose consecuentemente la velocidad de absorción intestinal de monosacáridos y disacáridos. De este modo la concentración de glucosa en sangre se incrementa más lentamente tras la comida, lo que reduce las necesidades de insulina, favorece la formación de glucógeno y reduce la transformación de hidratos de carbono en triglicéridos (26). También debemos considerar el efecto de la FD en la liberación de diferentes hormonas gastrointestinales: péptido inhibidor gastrointestinal (GIP), colecistocinina, enteroglucagon, etc., y potenciar el estímulo parasimpático vagal durante la digestión. Todos estos factores nerviosos y hormonales, además de retardar el vaciado gástrico y aumentar la motilidad intestinal, incrementan la liberación de insulina en la célula β (27).

También se ha demostrado que la FD soluble produce efectos beneficiosos en la tolerancia a la glucosa, modifica la secreción de insulina y glucagón (27). En el estudio Framingham, se concluye que existe una correlación inversa entre consumo de fibra e insulinoresistencia, aunque los mecanismos de esta acción no están determinados (28).

En una reciente revisión de los ensayos clínicos con grupos aleatorizados publicados en los últimos años (29), se concluye que el incremento del consumo de fibra constituye también un sistema seguro y aceptable de reducir la tensión arterial en sujetos hipertensos. Varios mecanismos de acción se han propuesto para justificar el efecto de la ingesta de fibra en la presión arterial. La hiperinsulinemia asociada a la resistencia a la insulina se ha considerado como principal responsable de la hipertensión en sujetos con síndrome metabólico, por ello, teniendo en cuenta el papel ya comentado de las fibras soluble e insoluble en la reducción de los niveles de insulina y la resistencia tisular a la hormona tanto en sujetos diabéticos como en personas sanas y su efecto en la reducción del peso corporal, el consumo de fibra podría jugar un papel importante en el control de la hipertensión.

Los individuos con síndrome metabólico también presentan niveles plasmáticos elevados de fibrinógeno, factor VII y del agente inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) el principal inhibidor de la fibrinólisis. Hay controversia sobre el efecto del consumo de fibra en estos factores que incrementan el riesgo de trombosis, pues mientras hay estudios que encuentran un efecto positivo del consumo de fibra en la disminución de estos factores en otros no aparecen. Existen también interesantes estudios que indican que el consumo de fibra reduce los niveles de proteína C reactiva (CRP) y las citoquinas inflamatorias IL-1, IL-8 y TNF- α , que se encuentran elevadas en el síndrome metabólico, y algunos estudios

indican también una asociación positiva entre consumo de fibra y la citoquina adipocitaria anti-inflamatoria adiponectina.

Efecto preventivo de la fibra dietética frente a la neoplasia de colon

Según la American Dietetic Association, el consumo de FD se ha relacionado directamente con la reducción del riesgo de diversos procesos cancerígenos del tracto gastrointestinal (30). El cáncer de colon está positivamente relacionado con las dietas ricas en grasa y en proteínas, y negativamente relacionado con las dietas ricas en féculas y en fibra dietética. Cada día existen más pruebas del efecto protector de la FD frente al cáncer de colon, proponiéndose diversos mecanismos, aunque probablemente el efecto se deba a la suma de todos ellos:

La fibra adsorbe y diluye una serie de sustancias cancerígenas que pueden estar presentes en el colon, la fibra disminuye el tiempo de tránsito intestinal, con lo que hay menor tiempo de contacto de los carcinógenos con la pared del intestino. La FD también modifica la flora intestinal, produciendo unas poblaciones bacterianas cuyos metabolitos son menos peligrosos para la pared del colon. La fermentación de la fibra soluble (FDS) en el colon produce ácidos grasos de cadena corta, uno de ellos el butirato se ha observado que estimula el crecimiento de las células del colon y reduce la degeneración de las criptas de la mucosa y la aparición de neoplasias. También el butirato está relacionado con la regulación del sistema inmune en el intestino.

Además de estos mecanismos propuestos para explicar el efecto preventivo de la fibra dietética frente al cáncer, hay que tener en cuenta que este efecto se ve favorecido porque el consumo de dietas ricas en alimentos de origen vegetal, implica un consumo reducido de proteínas y grasas animales y elevado de diferentes componentes vegetales protectores de las enfermedades degenerativas, como los antioxidantes (27).

Ingesta recomendada de fibra dietética. Situación en España

Según diferentes organizaciones norteamericanas (American Dietetics Association, American Diabetes Association, American Herat Association, National Cancer Institute y otras), las ingestas recomendadas de fibra deben estar entre 20 y 35 g por persona y día, procedente del consumo de alimentos no de suplementos, y debe incluir fibra soluble (de 5 a 10 g) y el resto insoluble (27). En Estados Unidos el consumo medio es entre 12 y 17 g/día, de la que aproximadamente $\frac{1}{4}$ sería soluble y el resto insoluble (27). En España, el consumo medio actual de hidratos de carbono no disponibles es de 18,3 g/persona día, siendo la fracción soluble de 7,13 g, no obstante, si consideramos el concepto de fibra en sentido amplio, o sea todo el material no digestible que llega al colon, esta cifra se eleva hasta 41,5 g/día (31). El mayor porcentaje de esta fibra la aportan los cereales (43 %), seguido de las verduras y hortalizas (33 %), frutas frescas (19 %), legumbres (4 %) y frutos secos (1 %).

En los últimos años, no obstante, se ha podido observar como el consumo de fibra ha disminuido significativamente. Por otro lado, el mercado de los productos dietéticos que contienen fibra ha crecido en los últimos años. Por ello, al menos en parte, la deficiencia de ingesta de fibra contenida en los alimentos, podría ser suplida con la FD contenida en preparados comerciales, aunque representan un modelo de consumo diferente: menos natural, más caro y, sobre todo, menos placentero. Debemos tener en cuenta que una dieta rica en fibra a partir de los alimentos, es una dieta rica en cereales, legumbres hortalizas y frutas, pero pobre en grasas y productos de origen animal, mientras que con suplementos conseguimos que una dieta rica en productos de origen animal también lo sea en fibra y éste es un patrón de consumo diferente del comprobado como beneficioso en los estudios epidemiológicos, y del que sabemos muy poco (27).

Por tanto, hay que insistir en aumentar el consumo de alimentos ricos en fibra como son las legumbres, hortalizas, cereales, frutas y verduras.

Bibliografía

1. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Les fibres alimentaire: définitions, méthodes de dosage, allégations nutritionnelles. Rapport du comité d'experts spécialisé nutrition humaine. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, 2002, France.
2. American Association of Cereal Chemists. AACC Dietary Fiber Technical Committee. The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World* 2001; 46:112.
3. Johnson I.T. Southgate D.A.T. Fibra Dietética y Substancias Relacionadas. Ed: Instituto Español de la Nutrición. Barcelona. (1995) 1-147.
4. Champ M, Langkilde A-M, Brouns F, Kettlitz B, Le Bail Collet Y. Advances in dietary fibre characterisation. 1. Definition of dietary fibre, physiological relevance, health benefits and analytical aspects. *Nutr Res Rev* 2003;16:71-8.
5. Bravo L. Abia R. y Saura-Calixto F. Polyphenols as dietary fiber associated compounds. Comparative study on in vivo and in vitro properties. *J Agric Food Chem.* (1994). 42: 1481-87.
6. Owen RW, Haubner R, Hull WE, Erben G, Spiegelhalder B, Bartsch H, Haber B. Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre. *Food Chem Toxicol.* 2003;41: 1727-38.
7. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. Tablas de Composición de Alimentos 10ª Ed. Pirámide. Madrid. 2006.
8. McCleary DBV, Brown IL (eds.). Novel Dietary Fibers: The Importance of Carbohydrates in the Diet. *J AOAC Int* 2004; 87: 681-796.
9. Bourdon I, Yokoyama W, Davis P, Hudson C, Backus R, Richter D, et al. Postprandial lipid, glucose, insulin and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with beta-glucan. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 55-63.
10. Liddle RA. Cholecystokinin cells. *Annu Rev Physiol* 1997; 59: 221-42.
11. Cani PD, Dewever C, Delzenne NM. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation, glucagonlike peptide-1, and ghrelin, in rats. *Br J Nutr* 2004; 92: 521-6.
12. Cummings J.H. Macfarlane G.T. Role of intestinal bacteria on nutrient metabolism. *J Parenter Enteral Nutr* 21, 357-65 (1997).

13. Ruiz-Roso B. Pérez-Olleros L. García-Cuevas M. Efecto de la Fibra Natural de Algarrobas (FNA) y otras fibras dietéticas sobre la digestibilidad de grasa y nitrógeno en ratas. *Nutr Hosp* XIV, 4: 159-163 (1999).
14. Vaquero MP. Pérez-Olleros L. García-Cuevas M. Veldhuizen M. Ruiz-Roso B. Requejo A. Mineral absorption of diets containing natural carob fiber compared to cellulose, pectin and various combinations of these fibers. *Food Sci Technol* In 6 (6): 463-471 (2000).
15. Ruiz-Roso B. Pérez-Olleros L. García-Cuevas M. Influencia del consumo de fibra dietética sobre la utilización nutritiva de proteína y minerales. *Nutr Hosp* XIV, 1,7-13. (1999).
16. Miller Jones J. Dietary fibre intake, disease prevention, and health promotion: An overview with emphasis on evidence from epidemiology. In: *Bioactive Carbohydrates for Food and Feed*. JW van der Kamp ed. Academic Publishers, Wageningen, 2004, Holanda.
17. Brown L, Rosner B, Willet WW, Sacks FM. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 1999. 69: 30-42.
18. Pérez-Olleros, L. García Cuevas M. Ruiz-Roso B. Requejo A. Comparative study of rats of two fibres: natural carob fibre (NCF) and psyllium husk. Influence over some aspects of nutritional utilisation diet and lipaemia. *J Sci Food Agric*. 79: 173-78. (1999).
19. Ter Meer HU, Haber B. Clinical evidence of cholesterol reduction by an insoluble dietary fibre. *Nutraceutical Bussines & Technol*. Diciembre 2004. 24-28.
20. Ruiz-Roso B. Requejo, A. Pérez-Olleros L. y Holguín JA. Product of vegetal origin comprising proanthocyanidines and its preparation processs. *PCT WO* 2006/000551A1.
21. Zunft HJ. Luder W. Harde A. Haber B. Graubaum HJ, Koebnick C, Gruenwald J. Carob pulp preparation rich in insoluble fibre lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic patients. *Eur J Nutr*. 2003. 42: 235-42.
22. Van Bennekum AM. Nguyen DV. Schulthess G. Hauser H. PhillipsMC. Mechanisms of cholesterol-lowering effects of dietary insoluble fibres: relationships with intestinal and hepatic cholesterol parameters. *Br J Nutr* 2005; 94: 331-7.
23. Nelson LH, Tucker LA. Diet composition related to body fat in a multivariate study of 293 men. *J Am Diet Assoc* 1996; 96: 771-7.
24. Appleby PM, Thorogood M, Mann JI, Key TJ. Low body mass index in non-meat eaters: the possible roles of animal fat, dietary fibre and alcohol. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22: 454-60.
25. Anderson JW, Davidson MH, Blonde L, Brown WV, Howard WJ, Ginsberg H, Allgood LD, Weingand KW. Long-term cholesterol-lowering effects of psyllium as an adjunct to diet therapy in the treatment of hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr*. 2000. 71: 1433-38.
26. Srivastava A.K. Pandey S.K. Potential mechanism(s) involved in the regulation of glycogen synthesis by insulin. *Mol. Cell. Biochem*. 182, 135-41 (1998).
27. Spiller GA. *Handbook of Dietary fiber in Human Nutrition*. 3rd edition. CRC Press. New York. 2001.
28. McKeown NM, Meigs JB, Liu S, Saltzman E, Wilson PV, Jacques PF. Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham Offspring Cohort. *Diabetes Care* 2004; 27: 538-46.
29. Whelton SP, Hyrea AD, Pedersen B, Yia Y, Whelton PK, He J. Effect of dietary fiber intake on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *J Hypertens* 2005; 23: 475-81.
30. Marlett JA, McBurney MI, Slavin JL. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *J Am Diet Assoc* 2002; 102: 993-1000.
31. Saura-Calixto F, y Goñi I. The intake of dietary indigestible fraction in the Spanish diet shows the limitations of dietary fibre data for nutritional studies. *Eur J Clin Nutr*. 2004 Jul; 58 (7): 1078-82.

The background features a stylized, light blue DNA double helix structure on the right side, spiraling upwards. To the left of the helix, there are several dark blue circles of varying sizes and thin, intersecting lines, creating a network-like pattern. The overall color palette is light blue and white, with dark blue accents for the text and graphics.

Capítulo 13

Factores desencadenantes
de la obesidad

Capítulo 13

Factores desencadenantes de la obesidad

J. Alfredo Martínez, M. Jesús Moreno-Aliaga y Amelia Martí

Instituto de Ciencias de la Alimentación. Universidad de Navarra, Pamplona

Resumen

La etiología y tratamiento de la obesidad exige el conocimiento de los mecanismos que controlan el metabolismo energético y la composición corporal. Los procesos de regulación del organismo ajustan fisiológicamente el aporte de sustratos combustibles y las demandas de energía con objeto de mantener una masa corporal estable. A la luz de las más recientes investigaciones se puede hipotetizar que el control del peso corporal y la adiposidad depende de un eje integrado por varios componentes autorregulados: apetito, metabolismo, termogénesis y depósitos grasos. Los factores más importantes implicados en la obesidad parecen ser los hábitos dietéticos y de actividad física, que están afectados por variantes genéticas, que a su vez, modifican el gasto energético, el metabolismo de sustratos genéticos y el consumo de alimentos. Sin embargo, las crecientes tasas de obesidad no pueden ser explicadas exclusivamente por causas genéticas, ya que en algunos casos están asociadas al consumo de dietas de alta densidad energética bien ricas en grasa y/o en hidratos de carbono, y por el creciente sedentarismo de las sociedades, tanto en países desarrollados como en transición. El conocimiento de la genética y el estilo de vida implicados en la ganancia de peso corporal y la obesidad pueden facilitar la puesta en marcha de acciones de prevención.

Palabras clave: Obesidad, hábitos dietéticos, genética y actividad física.

Introducción

El peso y la composición corporal permanecen relativamente constantes en el individuo adulto por largos periodos de tiempo, a pesar de las fluctuaciones cotidianas en la ingesta y gasto energético (1). En este sentido, se asume la existencia de procesos de regulación, que ajustan con precisión el aporte de nutrientes combustibles y las demandas de energía con objeto de mantener una masa corporal estable (2). Este equilibrio parece incluir una serie de mecanismos fisiológicos altamente integrados, que contribuyen a la regulación del peso corporal y los depósitos de tejido adiposo, que están continuamente comprometidos por inadecuados hábitos alimentarios y actitudes sedentarias (3).

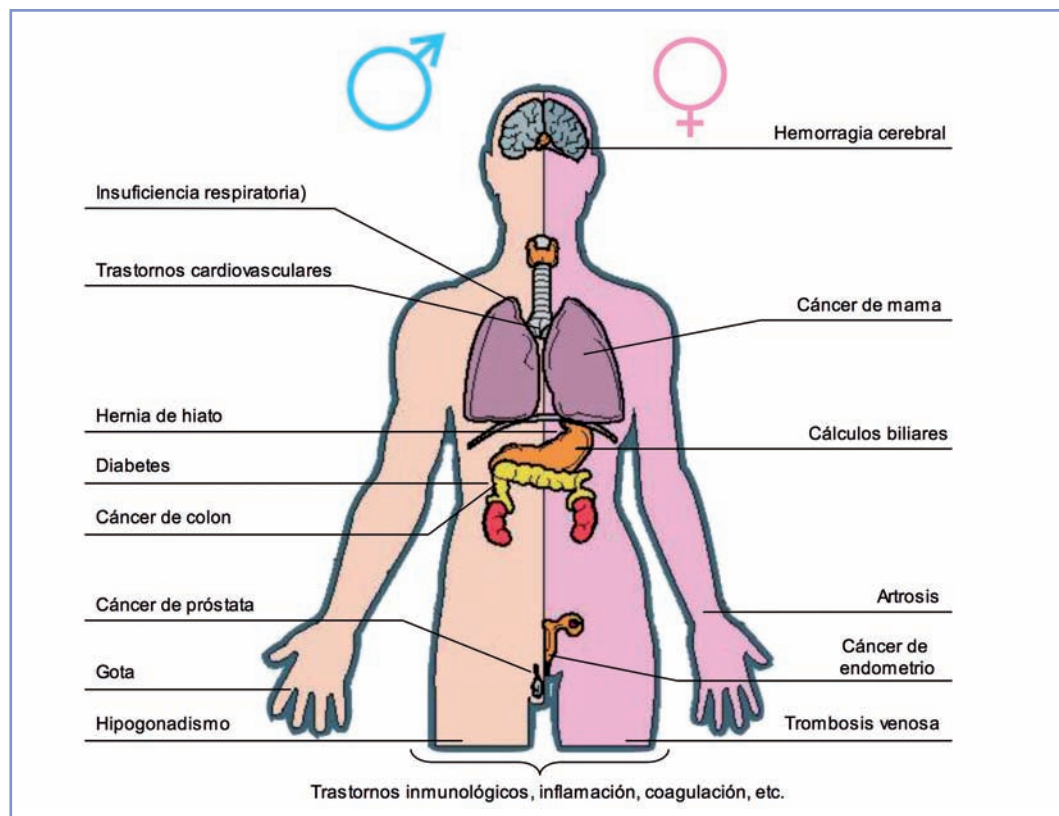
En este contexto, diversas teorías e hipótesis tratan de aplicar las leyes de la conservación y transformación de la energía en los organismos vivos al mantenimiento de la constancia en el peso (2-4). En efecto, el control de apetito y el gasto energético, así como la estabilidad de la composición corporal se ha atribuido, según diferentes hipótesis, a: a) la existencia de un nivel fisiológico fijado para el peso corporal, b) la regulación del apetito a través de procesos glucostáticos o glucogenostáticos,

c) la utilización homeostática de sustratos energéticos, d) la participación de un eje cerebro-tracto gastrointestinal, e) la existencia de un adipostato mediado por señales producidas en el tejido adiposo, f) modelos conductuales. Además, la descripción de mutaciones relacionadas con la obesidad y la identificación de factores de transcripción o genéticos, que regulan la funcionalidad y diferenciación de los adipocitos o la expresión de genes que afectan a su contenido lipídico, constituyen nuevas áreas de interés de investigación en esta área (5, 6). La obesidad implica no sólo un problema de estética y autoestima, sino que conlleva una serie de complicaciones y manifestaciones clínicas graves (Figura 1) y un aumento de las tasas de mortalidad.

Peso y regulación de depósitos adiposos

La precisión de la regulación del peso corporal (a menudo $\pm 1\%$ durante años) requiere poderosos mecanismos de retroalimentación, que controlen la masa corporal grasa (1). Sin embargo, un desequilibrio continuado entre la ingesta y el gasto energético en la vida diaria contribuye al desarrollo de la obesidad (7). Otros factores como la distribución de los macronutrientes en la dieta, la diferente participación de los componentes del gasto energético (metabolismo basal, efecto termogénico de los alimentos y la actividad física) y el metabolismo de nutrientes específicos (2) influyen también la ecuación del balance energético.

FIGURA 1 | Complicaciones asociadas al sobrepeso y obesidad.

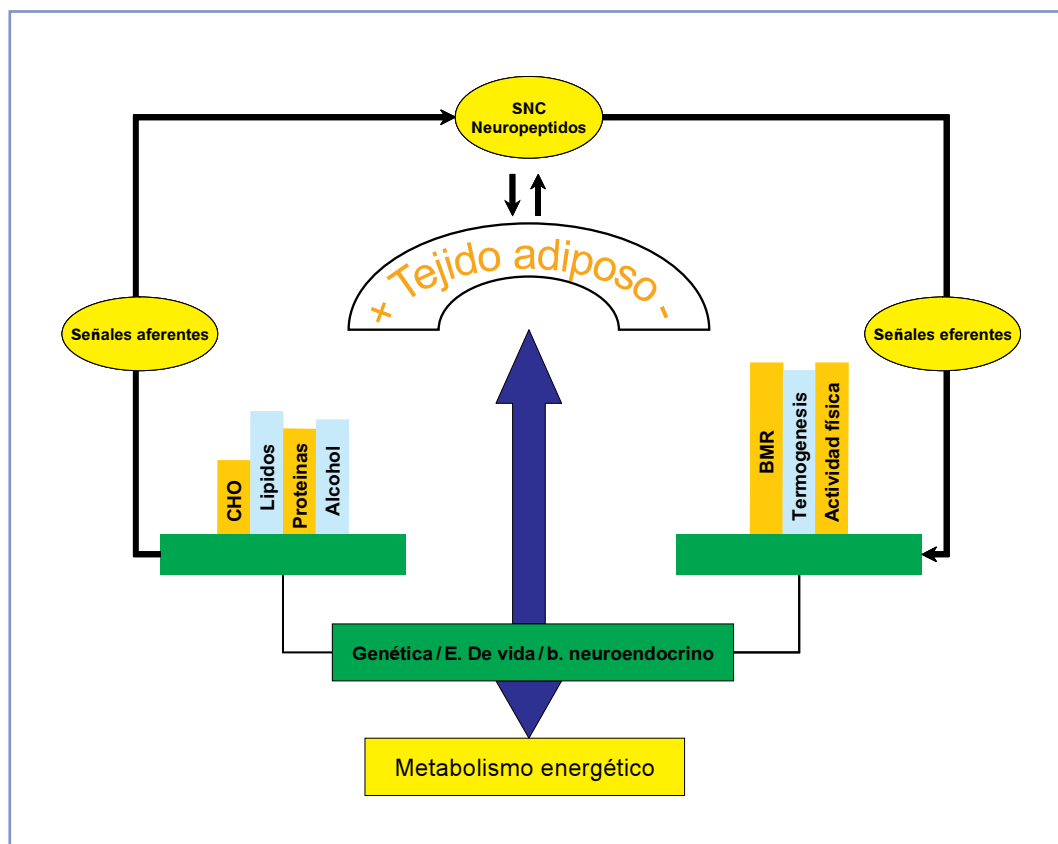


En este contexto, puede formularse la hipótesis de que el control del peso corporal y la composición dependen de un eje con tres componentes (Figura 2) estrechamente relacionados entre sí: 1) apetito, 2) metabolismo de nutrientes y termogénesis y 3) depósitos grasos corporales, de los que existen complejos mecanismos de retroalimentación entre ellos (4). Sin embargo, debe asumirse que el peso corporal está finalmente determinado por la interacción de factores genéticos, ambientales (hábitos dietéticos y de actividad física) y psicosociales que actúan a través de diferentes mecanismos fisiológicos del apetito y del metabolismo energético (8).

Apetito

El centro del apetito, localizado en el sistema nervioso central, es sensible a distintas señales sensoriales o ritmos circadianos mediados por la distensión o liberación de hormonas locales y señales nutritivas, las cuales modulan la ingesta a través de mecanismos específicos medidos por diferentes neurotransmisores (9), incluyendo monoaminas (noradrenalina, dopamina, serotonina, etc.), aminoácidos (triptófano, tirosina, GABA, etc.) y neuropeptidos (greлина, melanocortinas, polipéptidos pancreáticos, factores liberadores de hormona, péptidos gastrointestinales como la colecistoquinina y neuropeptido Y, etc.).

FIGURA 2 | Mecanismos y procesos implicados a la regulación del metabolismo energético y la composición corporal.



Todas estas señales, generan señales nerviosas y endocrinas que desencadenan ajustes cuantitativos y cualitativos apropiados no solamente sobre la ingesta de nutrientes, sino también sobre el metabolismo energético (Figura 2, en página anterior). Las teorías glucostática, lipostática y aminostática del apetito no parecen ser suficientes para explicar estos procesos reguladores. Así, el sistema nervioso autónomo y diversas hormonas circulantes (greлина, leptina, insulina, cortisol, hormona de crecimiento y mediadores gastrointestinales, etc.) están involucrados en la respuesta metabólica a la ingesta de alimentos en las que también interviene el tracto gastrointestinal (10).

Metabolismo de nutrientes y termogénesis

Un segundo circuito de control del peso corporal comprendería la regulación del recambio metabólico de sustratos y la termogénesis, que no solamente dependen del aporte de nutrientes, sino también de la regulación específica de su utilización a través de procesos nerviosos, endocrinos y enzimáticos y de la existencia de ciclos fútiles (4, 11). En ese sentido, la oxidación lipídica está poco regulada con relación a la oxidación de proteína y carbohidratos después de la ingesta. Además, la respuesta termogénica del tejido adiposo pardo es el resultado del balance entre influencias de origen nervioso central y la inervación simpática de la grasa parda. El resultado de este equilibrio (Figura 2) tiene una influencia directa tanto sobre la acumulación de grasa corporal como sobre el apetito (4, 8).

Tejido adiposo

La reserva grasa en el tejido adiposo ha recibido poca atención científica hasta hace poco tiempo, aunque ahora el adipocito se considera como un centro de regulación metabólica (12).

En este sentido, la hormona leptina, producida mayoritariamente en el tejido adiposo, podría cubrir este tercer sistema de regulación –lipostato–, aportando información sobre los depósitos efectivos de grasa a un sistema central de control, que a su vez modula la acumulación de grasa a través de señales nerviosas o endocrinas mediadas por los receptores adrenérgicos β_3 , y algunas hormonas o péptidos que afectan al metabolismo lipídico tales como la hormona de crecimiento, la insulina y los esteroides. La grasa corporal podría afectar a la utilización de nutrientes y a la selección de macronutrientes directa o indirectamente (Figura 2). El papel de los genes que afectan a la adipogénesis y a la diferenciación del adipocito son objeto de investigaciones recientes, así como la eficiencia mitocondrial junto con los procesos inflamatorios en este tejido y la participación de adipocinas (12, 13).

Etiología de la obesidad

La obesidad se define como un exceso de grasa corporal debido a un balance positivo en la ecuación energética, bien por una ingesta calórica excesiva, bien por un descenso en el gasto energético aunque no se descarta la implicación de otros procesos (14). La obesidad se asocia con diferentes condiciones fisiopatológicas, (diabetes, hipertensión, hipercolesterolemia...) que conllevan un alto coste económico y de gran relevancia en salud pública por las complicaciones asociadas (Figura 1). Además, la creciente tasa de obesidad en los últimos años sugiere que influencias culturales y sociales, pueden intervenir en el ajuste de la ecuación energética junto con determinantes genéticos y fisiopatológicos (15). Así, se estima que entre el 40-70% de la variación en los fenotipos relacionados con la obesidad es hereditario, mientras que las influencias ambientales podrían explicar cerca del 30% de los casos de obesidad (8).

El enorme incremento en la prevalencia de la obesidad en poblaciones, cuyos antecedentes genéticos han permanecido relativamente estables, aporta una confirmación de que los agentes ambientales pueden tener una importancia considerable (16). El proceso de modernización y reestructuración socioeconómica en países desarrollados y en vías de desarrollo ha modificado los modelos sociales nutricionales y de actividad física (7). Los sistemas de alimentación han mejorado la disponibilidad de alimentos de alta densidad energética, mientras que los estilos de vida sedentarios están extendiéndose constantemente (17). En efecto, estudios transversales han hallado una fuerte asociación entre los hábitos dietéticos y la inactividad física con las situaciones de sobrepeso y obesidad. Además, estudios prospectivos han suministrado evidencias complementarias, sugiriendo que el ejercicio físico puede contribuir a prevenir las situaciones de sobrepeso y obesidad (3). Las tasas crecientes de sobrepeso y obesidad (15) justifican los esfuerzos de la comunidad científica para conocer las causas de la obesidad, entre las que se encuentran componentes genéticos y endocrinos junto con factores ambientales (hábitos dietéticos y modelos de actividad física) (8).

Papel de la herencia en la obesidad

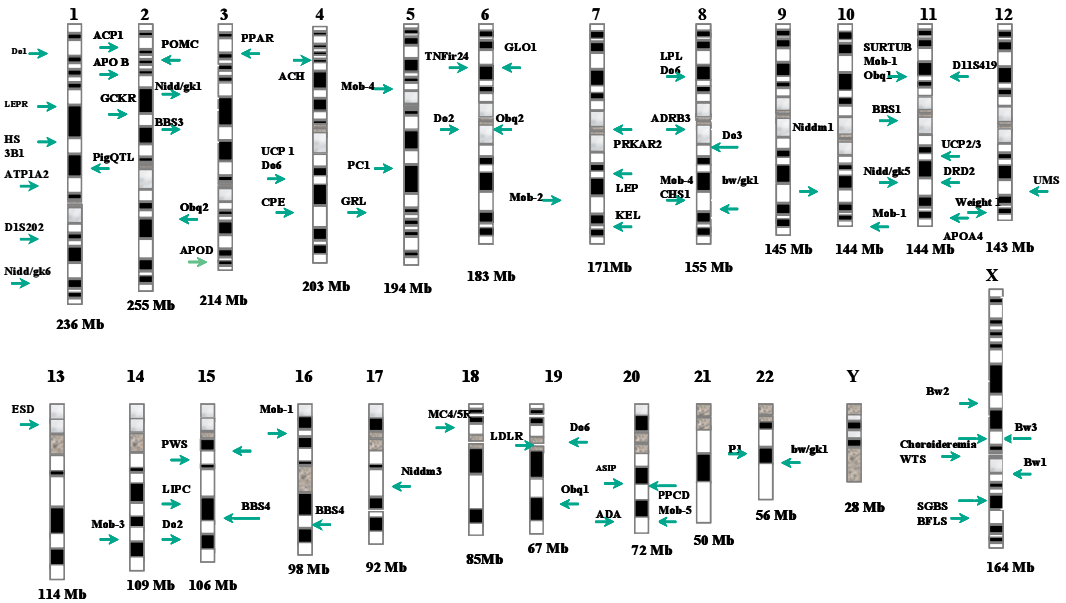
La predisposición genética para la obesidad está relacionada tanto con la ingesta como con el gasto energético (18). En este contexto, algunos hallazgos informan de mutaciones individuales con implicaciones en la obesidad (leptina, receptor de la leptina, PPARG, POMC, etc.), de síndromes mendelianos en los que la obesidad es una manifestación clínica (Prader-Willi, Wilson.-Turner, Bordet-Bield, etc.), de modelos animales con obesidad genética (animales transgénicos, animales genéticamente obesos o ensayos de apareamiento entre animales), y a través de estudios de asociación, ligamiento, y casos-control destinados a la identificación de genes candidatos y búsquedas de marcadores en el genoma (19).

Los genes pueden influenciar señales aferentes y eferentes así como mecanismos centrales implicados en la regulación del peso corporal (19). El número de marcadores implicados en la obesidad pueden ser más de 600 según las últimas revisiones (Figura 3, página 216). Algunos genes están implicados específicamente en el control de la ingesta (neuropéptido Y, leptina, POMC, CCK, MCH, etc.) o en la regulación de la termogénesis (receptores adrenérgicos $\beta 2$ y $\beta 3$, proteínas desacoplantes, leptina, etc.), mientras que la expresión de algunos otros genes influyen diferentes vías de señalización, adipogénesis, etc., que podrían afectar a la ecuación energética (20). Otros posibles mecanismos fisiológicos a través de los cuales una susceptibilidad genética puede operar, incluyen una baja tasa de metabolismo basal, disminución en la oxidación de macronutrientes, bajo contenido en masa magra, así como otros factores relacionados con la utilización de macronutrientes o el perfil hormonal, incluyendo la sensibilidad a la insulina (18). La existencia de genes o mutaciones responsables de la susceptibilidad de algunos individuos o grupos de individuos para ganar peso en presencia de una dieta de alta densidad energética o unos niveles bajos de actividad física están siendo investigados.

En resumen, la obesidad es un síndrome complejo de origen multifactorial, que podría ser explicado por mutaciones monogénicas, aunque en la mayor parte de los casos parece resultar de interacciones poligénicas, que podrían ser a su vez afectadas por una serie de factores ambientales, como dietas hipercalóricas y la inactividad (5, 8).

Factores dietéticos y metabólicos implicados en la obesidad

El balance energético viene determinado por la ingesta de macronutrientes, el gasto energético y la oxidación específica de los sustratos energéticos (2).

FIGURA 3 | Algunas regiones cromosómicas implicadas en la obesidad.

Así, la ingesta de proteína y de hidratos de carbono desencadena espontáneamente un potente ajuste de regulación en la oxidación de proteínas y de hidratos de carbono, mientras que el balance lipídico está regulado de forma menos aguda (21). Por otra parte, la mayor parte de los individuos alcanzan un peso, en el cual la composición media de los sustratos energéticos que oxidan se ajusta con la distribución de macronutrientes en su dieta. En condiciones de estudio rigurosas se ha encontrado que los sujetos suelen tener un alto coeficiente respiratorio cuando tienden a quemar más glucosa y menos grasa, lo que parece implicar un mayor riesgo de ganar peso a lo largo de los años.

El hecho de que se oxide toda la grasa que es consumida parece ser un factor protector de la obesidad, lo cual queda corroborado por la circunstancia de que el ajuste de la oxidación de la grasa ingerida parece ser más lento en sujetos obesos que en delgados (22).

Adicionalmente, parece ser que aquellos individuos genéticamente predispuestos a la obesidad podrían presentar una oxidación lipídica alterada en situaciones de post-obesidad. Por tanto, el ajuste individual entre la composición de la mezcla de sustratos oxidada a la distribución de macronutrientes de la dieta podría jugar un papel crucial para permitir la estabilidad del peso a corto y largo plazo (1).

Además, la ganancia de peso puede también depender de la distribución de los sustratos energéticos de la dieta, ya que pueden tener un impacto diferente sobre el metabolismo y el apetito así como en la respuesta del sistema nervioso simpático y, por tanto, en el balance energético y en el peso corporal (23). Por otra parte, un coeficiente respiratorio alto podría reflejar una oxidación de lípidos inferior, lo cual sería un indicador de ganancia de peso, aunque otros investigadores, han publicado que la eficiencia metabólica podría jugar un papel menor en el desarrollo de la obesidad.

La influencia de la grasa de la dieta sobre la prevalencia de obesidad es objeto de controversia (21). Así, existen argumentos en contra de la implicación de la grasa dietética en la obesidad basados en estudios longitudinales y ecológicos, que sugieren que la reducción en el consumo de grasa y el uso frecuente de productos bajos en calorías en algunos países se ha relacionado paradójicamente con un incremento en la prevalencia de obesidad (2). Adicionalmente, aunque las dietas hipolípicas pueden ser útiles en la reducción de la grasa corporal o en prevenir la ganancia de peso, datos actuales parecen indicar que una reducción de los lípidos de la dieta debiera ser empleada principalmente como un medio para reducir la densidad energética. Por otra parte, ensayos experimentales en animales que recibieron dietas ricas en grasa han mostrado de forma consistente un aumento gradual en el peso. La ingesta excesiva de grasa es frecuente en individuos que consumen dietas de alta densidad energética, mientras que las poblaciones que consumen muy bajos niveles de grasa normalmente no muestran niveles altos de prevalencia de obesidad. Además, dos meta-análisis de estudios de intervención han revelado que existe una pérdida de peso cuando se reduce el consumo de lípidos. Las investigaciones sobre el papel de la ingesta de hidratos de carbono o de azúcar en la prevalencia de la obesidad, establecidos a través de estudios de intervención e epidemiológicos, han reseñado que aquellos grupos que consumen una alta proporción de energía, como hidratos de carbono, presentan una menor posibilidad de ser obesos que los que consumen bajos niveles de azúcar, lo que ha sido explicado por cambios recíprocos en la ingesta de grasa. En todo caso, las bebidas refrescantes (Figura 4) y algunos tipos de comida rápida son predotores de obesidad, mientras que el consumo de frutas e ingesta de fibra se considera protector (24) (Figura 5).

Algunos de estos resultados podrían ser explicados por factores modificadores, tales como la predisposición genética, el sexo y por la actividad física (5, 8).

FIGURA 4 | El consumo de bebidas refrescantes se asocia con una mayor ganancia de peso.

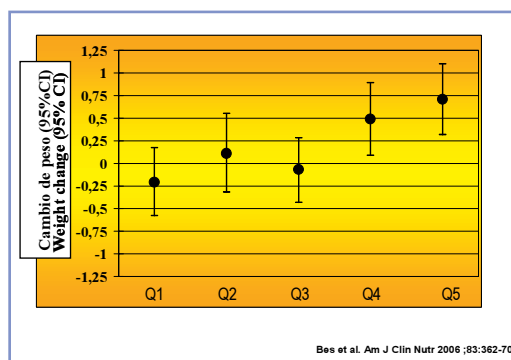
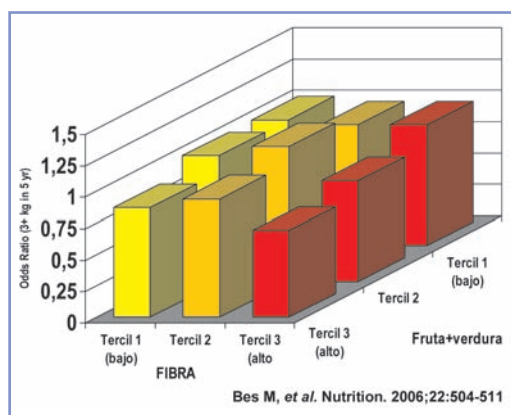


FIGURA 5 | El consumo de fibra y productos vegetales se considera como elemento beneficioso para evitar la ganancia excesiva de peso.



Actividad física y peso corporal

El gasto energético puede influenciar el peso y la composición corporal, a través de cambios indirectos en la tasa de metabolismo basal, en el efecto termogénico de utilización de los alimentos y en la demanda energética propia de la actividad física (25).

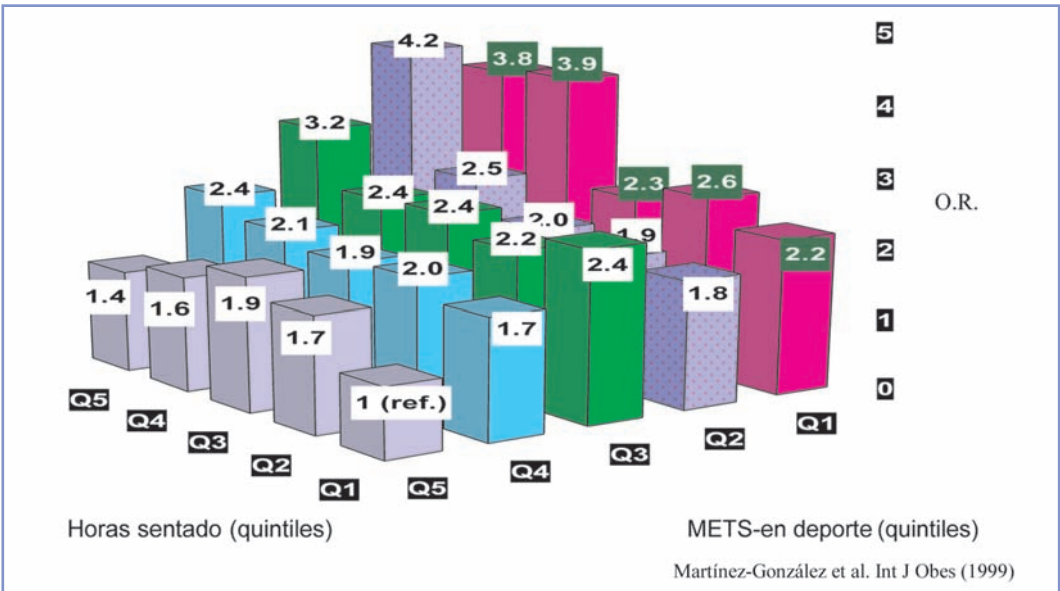
Así, los resultados disponibles sugieren que una situación de sedentarismo es un importante factor de incremento en la prevalencia de la obesidad, aunque una menor respuesta a la ingesta y menores tasas de metabolismo basal también pueden tener un impacto sobre la ganancia de peso (26).

Además, datos transversales han encontrado algún tipo de asociación entre la actividad física en el tiempo de ocio (inversa) o con el tiempo destinado a estar sentado (directa) con el IMC (Figura 6). Así, una baja participación en actividades deportivas y una ausencia de interés en participar en la actividad física y un alto número de horas de sedentarismo sentado en el trabajo son predictores significativos de la obesidad (27). Por otra parte, un análisis de cuestionarios de tiempo y presupuestos señala que el esfuerzo físico destinado al trabajo ha disminuido en las últimas décadas, lo que se ha asociado de un débil, pero significativo incremento en el IMC en varones, pero no en mujeres (28).

En este contexto, estimaciones relacionadas con la evolución de actividades sociales y el empleo de equipos electrodomésticos entre 1950 y 2000 señalan que los hombres y mujeres realizan ahora mucho menos ejercicio que hace una generación (27). Así, "jugar" requiere aproximadamente 900 Kcal/4 h. y "ver la televisión" únicamente 310 Kcal/3h, "comprar en el mercado" requiere 2.500 Kcal/semana y "comprar en un hipermercado con carrito" requiere menos de 100 Kcal/semana, "hacer fuego para cocinar" exige 11.300 Kcal/semana y "encender un fuego eléctrico" solamente unas pocas Kcal, "lavar ropa a mano" exige 1.500 Kcal/día, mientras que "lavar con una lavadora automática" necesita solamente 270 Kcal/2 h. etc. Se estima que una reducción en tareas diarias domésticas en unas 111 Kcal/día, conlleva una ganancia teórica de peso anual de 4,5 Kg.

De hecho, actualmente pocas ocupaciones serían clasificadas como muy activas en relación a varias decenas de años atrás.

FIGURA 6 | El riesgo de obesidad aumenta notablemente cuando se realiza poco ejercicio y se dedica un número elevado de horas a permanecer sentado.



Estos datos, sin embargo, no ofrecen una explicación definitiva sobre una relación causa efecto entre la asociación inversa del IMC con la actividad física, dificultando el conocer si los obesos son menos activos a causa de su obesidad o si su sedentarismo causa la obesidad (25). Algunas informaciones complementarias sobre las tendencias en el gasto energético muestran que los niveles crecientes de prevalencia de obesidad se deben a modelos de reducción de actividad física y de aumento de las conductas sedentarias en diversas poblaciones (28, 29). Así, la primera encuesta nacional americana de salud llevada entre 1971 y 1974 en la que participan 8.300 individuos reveló que bajos niveles de actividad física en los 10 años anteriores estaban asociados con ganancia de peso, mientras que actividades de ocio de tipo deportivo estaban inversamente correlacionadas con el peso corporal. Otros estudios y cuestionarios utilizando indicadores indirectos de actividad física como horas dedicadas a ver la TV, número de coches por hogar y número de horas sentado durante el tiempo de ocio, señalan que la reducción del gasto energético podría ser el determinante más importante de la epidemia de obesidad actual (8, 16).

Por último, las interacciones entre la herencia genética y el sedentarismo han permitido concluir que la predisposición genética puede modificar el efecto de la actividad física sobre los cambios de peso en varones y mujeres, y que el estilo de vida podría tener un efecto específico sobre la obesidad dependiendo de la predisposición genética (30, 31), lo cual puede tener especial relevancia para la prevención de la obesidad en niños y adolescentes (16).

Conclusiones

La alta precisión de la regulación del peso corporal se alcanza con un conjunto de sistemas integrados, que ajustan el balance energético (ingesta y gasto). La consecuencia fisiológica de esta compleja maquinaria homeostática es minimizar ganancias o pérdidas de peso,

lo cual constituye una ventaja para la supervivencia humana en periodos de hambruna, supervivencia o de abundancia. En este contexto, tres factores parecen participar específicamente en el mantenimiento de la constancia del peso corporal: utilización metabólica de los nutrientes, hábitos dietéticos y la actividad física. Estos factores están afectados por genes que, a su vez, pueden influenciar el gasto energético, el metabolismo de sustratos y el apetito. Sin embargo, las crecientes tasas de obesidad no deben ser atribuidas directamente a cambios en el componente genético, aunque variantes genéticas que permanecieron “silenciosas” pueden ahora manifestarse por la alta disponibilidad de energía en las dietas hipercalóricas y por el creciente sedentarismo de las sociedades modernas, así como el papel de determinados virus, toxinas, fármacos, etc.

Las interacciones entre genotipo y ambiente se ponen de manifiesto cuando la respuesta de un fenotipo (masa grasa) a cambios ambientales depende del genotipo del individuo. Aunque es bien sabido que existen diferencias interindividuales en la respuesta a diversas interacciones dietéticas, pocos intentos se han llevado a cabo para establecer si estas diferencias son dependientes del genotipo. Además, las interacciones genotipo-ambiente pueden afectar al peso corporal, el gasto energético y la acumulación de grasa corporal inducida por el consumo de dietas ricas en grasa, lo que apoya el hecho de que rasgos genéticos pueden aumentar el riesgo de obesidad a través de la regulación de la oxidación de macronutrientes.

En este contexto, las corrientes epidemiológicas actuales sobre la evolución de las tasas de obesidad indican que una causa importante del problema de obesidad subyace en modelos inadecuados dietéticos y de actividad física, mientras que los estudios metabólicos y genéticos revelan que hay individuos más susceptibles a ganar peso que otros.

La prevención y tratamiento de la obesidad exige una visión integrada. El examen de factores tales como la genética y el estilo de vida como predictores de obesidad contribuirá al desarrollo de acciones preventivas.

Bibliografía

1. Jequier E and Tappy L (1999). Regulation of body weight in humans. *Physiol Rev* 79: 451-480.
2. Martínez JA, Moreno MJ, Marqués-Lopes I and Martí A. (2002). Causes of obesity. *An Sist Sanit Navar* 25 Suppl 1: 17-27.
3. Hill JO (2006). Understanding and addressing the epidemic of obesity: an energy balance perspective. *Endocr Rev* 27: 750-761.
4. Martínez JA and Fruhbeck G (1996). Regulation of energy balance and adiposity: a model with new approaches. *J Physiol Biochem* 52: 255-258.
5. O'Rahilly S and Farooqi IS (2006). Genetics of obesity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361: 1095-1105.
6. Martí A and Martínez JA (2006). Genetics of obesity: gene x nutrient interactions. *Int J Vitam Nutr Res* 76: 184-193.
7. Stafford M, Cummins S, Ellaway A, Sacker A, Wiggins RD and Macintyre S (2007). Pathways to obesity: Identifying local, modifiable determinants of physical activity and diet. *Soc Sci Med*. (en prensa). Doi: 10.1016/j.socscimed. 2007.05.042.
8. Martí A, Moreno-Aliaga MJ, Hebebrand J and Martínez JA (2004). Genes, lifestyles and obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28: 529-36.
9. Solomon A and Martínez JA (2006). Participación del sistema nervioso y del tracto gastrointestinal en la homeostasis energética. *Rev Med Univ Navarra* 50: 27-37.
10. Crowell MD, DeCaer GA, Levy R, Jeffrey R and Talley NJ (2006). Gut-brain neuropeptides in the regulation of ingestive behaviours and obesity. *Am J Gastroenterol* 101: 2848-2856.
11. Ricquier D (2002). To burn or to store. *Ann Endocrinol* 63: 7-14.
12. Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MI and Lima FB (2007). The adipose tissue as a regulatory center of the metabolism. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 50: 216-229.
13. Martínez JA (2006). Mitochondrial oxidative stress and inflammation: an slalom to obesity and insulin resistance. *J Physiol Biochem* 62: 303-306.
14. Bray GA and Champagne CM (2005). Beyond energy balance: there is more to obesity than kilocalories. *J Am Diet Assoc* 105: 517-23.
15. Shetty P and Schmidhuber J (2006). The epidemiology and determinants of obesity in developed and developing countries. *Int J Vitam Nutr Res* 76: 157-162.
16. Ochoa MC, Moreno-Aliaga MJ, Martínez-González MA, Martínez JA and Martí A (2007). Predictor factors for childhood obesity in a Spanish case-control study. *Nutrition* 23: 379-384.
17. Karnehed N, Tynelius P, Heitmann BL and Rasmussen F (2006). Physical activity, diet and gene-environment interactions in relation to body mass index and waist circumference: the Swedish young male twins study. *Public Health Nutr* 9: 851-858.
18. Bell CG, Walley AJ and Froguel P (2005). The genetics of human obesity. *Nat Rev Genet* 6: 221-234.
19. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, Perusse L and Bouchard C (2005). The human obesity gene map. *Obesity* 14: 529-644.
20. Ochoa MC, Martí A and Martínez JA (2004). Obesity studies in candidate genes. *Med Clin* 122: 542-551.
21. Labayen I and Martínez JA (2002). Distribución de macronutrientes en la dieta y regulación de la composición corporal. *An Sist Sanit Navar* 25: 79-90.
22. Blaak EE, Hul G, Verdisch C, Stich V, Martínez JA, Petersen M, Feskens EF, Patel K, Oppert JM, Barbe P, Toubro S, Polak J, Anderson I, Astrup A, Macdonald I, Langin D, Sorensen T, Saris WH (2007). Impaired fat-induced thermogenesis in obese subjects: the NUGENOB study. *Obesity* 15: 653-663.
23. Jebb SA (2007). Dietary determinants of obesity. *Obes Rev* 8: S93-S97.
24. Bes-Rastrollo M, Sánchez-Villegas A, Gómez-Gracia E, Martínez JA, Pajares RM and Martínez-González, MA (2006). Predictors of weight gain in a Mediterranean cohort the Seguimiento Universidad de Navarra Study 1. *Am J Clin Nutr* 83: 362-370.
25. Ekelund U, Särnblad S, Brage S, Ryberg J, Wareham NJ and Aman (2007). Does physical activity equally predict gain in fat mass among obese and monobese young adults?. *Int J Obes* 31: 65-71.
26. Bergouignan A and Blanc S (2006). The energetics of obesity. *J Soc Biol* 200: 29-35.
27. Martínez-González MA, Martínez JA, Hu FB, Gibney MJ and Kearney J (1999) Physical inactivity, sedentarism lifestyle and obesity in the European Union. *Int J Obes* 23: 1-10.
28. Ferro-Luzzi A and Martino L (1996) Obesity and physical activity. *Ciba Foundation Symposia* 20: 207-21.
29. Lanningham-Foster L, Nysse LJ and Levine JA (2003) Labor saved, calories lost: the energetic impact of domestic labor-saving devices. *Obesity* 11: 1178-1181.
30. Loos RJ and Rankinen T (2005). Gene-diet interactions on body weight changes. *J Am Diet Assoc* 105: 529-34.
31. Martí A, Martínez-González MA and Martínez JA (2008).



Capítulo 14

Las contribuciones del estudio europeo EPIC al conocimiento de la relación entre nutrición y cáncer

Capítulo 14

Las contribuciones del estudio europeo EPIC al conocimiento de la relación entre nutrición y cáncer

Carlos A. González

Grupo de Nutrición, Ambiente y Cáncer.

Departamento de Epidemiología. Instituto Catalán de Oncología. Barcelona.

Resumen

EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition), es un estudio prospectivo multicéntrico llevado a cabo en 23 centros de 10 países europeos: Dinamarca, Francia, Alemania, Grecia, Italia, Países Bajos, Noruega, España, Suecia y el Reino Unido, incluyendo 519.978 sujetos (366.521 mujeres y 153.457 hombres), de edades comprendidas entre los 35 y los 70 años. Fue diseñado para investigar la relación entre la dieta y el cáncer, con el objetivo de hacer una contribución significativa al ya acumulado conocimiento científico, intentando superar las limitaciones de estudios previos. Presentamos los resultados más relevantes para los tipos de cáncer más frecuentes. El alto consumo de fruta está negativamente asociado con el cáncer de pulmón y el cáncer gástrico. El consumo de verduras, probablemente reduzca el riesgo de cáncer de estómago y el del pulmón en fumadores. El consumo de carne roja y carne procesada está positivamente asociada con el cáncer colorectal y el cáncer de estómago de la porción distal en aquellas personas infectadas por el *Helicobacter Pylori*.

El consumo elevado de fibra alimentaria y de pescado está negativamente asociado con el cáncer colorectal. El consumo elevado de alcohol incrementa el riesgo de cáncer de mama y de colon y recto. La obesidad abdominal está fuertemente asociada al cáncer de colon, mientras que la obesidad general al cáncer de mama, especialmente en mujeres menopáusicas que no consumen terapia hormonal sustitutiva. Estos primeros resultados del estudio EPIC, en combinación con datos de otros estudios prospectivos, aportan el conocimiento necesario para el desarrollo de estrategias de salud pública basadas en la evidencia científica, cuyo objetivo debe ser reducir el riesgo de cáncer en la población europea.

Introducción

Existe una amplia evidencia científica, proveniente de la investigación humana y experimental en animales, sobre el role de la nutrición en la aparición del cáncer, siendo la causa más importante de cáncer después del tabaco.

Sin embargo, a pesar de décadas de investigación epidemiológica, la evidencia sobre la relación de diversos tipos de cáncer con el consumo de alimentos y nutrientes es aún insuficiente o inconsistente y sólo para algunos tumores y ciertos grupos de alimentos se han establecido conclusiones sólidas. Varias razones pueden explicar estas incertezas. Algunas están relacionadas con las limitaciones de los estudios epidemiológicos de tipo caso-control, como el denominado sesgo de recuerdo (recuerda más y mejor un caso enfermo que un control sano), o por el hecho de que los alimentos y nutrientes asociados al cáncer son los consumidos varios años antes (a menudo décadas), de la aparición del tumor, y las personas podrían haber modificado su dieta durante la fase prediagnóstico de la enfermedad, que representa el periodo de tiempo cubierto habitualmente por las entrevistas alimentarias en los estudios caso-control. Otras podrían afectar tanto a los estudios de tipo caso-control como a los de tipo prospectivo o cohorte, como los errores en la medición del consumo de alimentos, el insuficiente tamaño del estudio y por ello la ausencia de suficiente potencia estadística para poner en evidencia una asociación verdadera, y/o la homogeneidad de los hábitos alimenticios entre los sujetos participantes del estudio.

Hay que tener en cuenta que si bien el riesgo atribuible a la nutrición es alto (probablemente un tercio de los casos de cáncer están asociado a la dieta), porque la exposición a la dieta afecta a toda la población, el riesgo relativo (magnitud del efecto) es bajo (habitualmente entre 1,2 y 1,6). Por ello el impacto del error de medida que diluye el efecto es muy importante y se requieren grandes estudios, y con buenos métodos de medición de la ingesta, para encontrar diferencias significativas para riesgos relativos bajos.

El estudio EPIC fue específicamente diseñado para investigar la relación entre la dieta y el cáncer, con el objetivo de hacer una

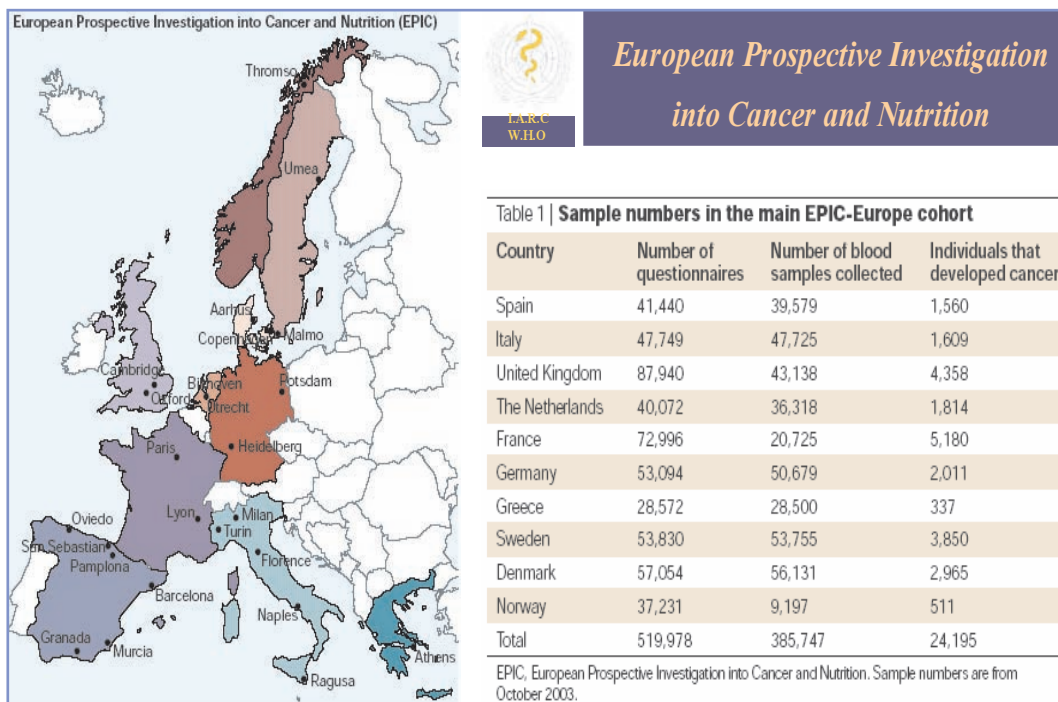
contribución significativa al conocimiento científico ya acumulado, intentando superar las limitaciones de otros estudios previos.

En esta presentación, describimos las características generales del diseño del estudio y los resultados publicados iniciales más importantes sobre la asociación entre algunos grupos de alimentos y los tumores más frecuentes en la población mundial (próstata, pulmón, colorectal, mama y estómago). [Las publicaciones realizadas por la cohorte EPIC pueden ser consultadas en la página web de EPIC (<http://www.iarc.fr/EPIC/>)]

El diseño del estudio EPIC

EPIC es un estudio prospectivo multicéntrico, uno de los mayores del mundo, cuyo objetivo principal es la investigación de la relación entre la dieta, el estilo de vida, factores medioambientales y genéticos y la incidencia de cáncer (1-2). Se lleva a cabo en 23 centros de 10 países de Europa: Dinamarca, Francia, Alemania, Grecia, Italia, Países Bajos, Noruega, España, Suecia y el Reino Unido, incluyendo 519.978 sujetos sanos (366.521 mujeres y 153.457 hombres), de edades comprendidas entre los 35 y los 70 años, reclutados principalmente entre 1992 y 1998 (Figura 1). En España se realiza en 5 áreas geográficas (Granada y Murcia en el sur, y Navarra, Guipuzcoa y Asturias en el norte). Los participantes se han reclutado usualmente entre la población general residente en un área geográfica dada, ciudad o provincia. Las excepciones fueron la cohorte de Francia basada en miembros de un seguro médico para empleados de educación, la cohorte de Utrecht y la de Florencia basada en mujeres participantes de un programa de diagnóstico precoz de cáncer de mama, parte de las cohortes de Italia y España basada en donantes de sangre, y la mayoría de la cohorte de Oxford basada en vegetarianos.











FIGURA 1 | The EPIC Study.



Para la información sobre la exposición alimentaria, se utilizaron varios métodos de medida, previamente validados (3) adaptados a las necesidades de cada país, que incluyen: cuestionarios de frecuencia semicuantitativa de alimentos autoadministrados (FFQs, con aproximadamente 260 alimentos), cuestionarios de historia de dieta (con más de 600 alimentos), administrados por medio de entrevistas, y cuestionarios semicuantitativos combinados con registros de la dieta durante una semana. Además, se realizó un recuerdo estandarizado de 24 horas, que fue aplicado por entrevista por medio de un programa computerizado (EPIC-SOFT) en una submuestra del 8% de la cohorte (4) que se utilizó para calibrar los instrumentos de medida de la dieta, con el objetivo de corregir errores sistemáticos producidos por la sobre o subestimación del consumo de alimentos. Se recogió además mediante otros cuestionarios una amplia información sobre hábitos personales,

estilos de vida, consumo de hormonas e historial médico y se tomó el peso, la altura y las medidas de cintura y cadera. Se obtuvo asimismo una muestra de sangre (en 387.889 individuos) para análisis bioquímico, hormonal, y genético, fraccionadas en pajuelas de leucocitos, suero, plasma y glóbulos rojos, la mayoría conservadas en nitrógeno líquido. Hasta marzo de 2007, más de 41.000 casos de cáncer han sido identificados (Figura 2, página 226) por medio de un "record-linkage" computerizado con Registros de Cáncer de base poblacional existentes en los centros EPIC, excepto en Grecia, Francia y Alemania, donde una combinación de métodos (registros de aseguradoras médicas, registros hospitalarios y seguimientos activos) están siendo utilizados. Se ha completado además una tabla estandarizada de Composición de Alimentos (base de datos de nutrientes del EPIC-ENDB) para los 10 países participantes (5).

FIGURA 2 | Seguimiento de la cohorte EPIC 1994-2007.

Incidencia de Cáncer (Total: 41.768 casos)											
											EPIC
	Nor	Swe	Den	UK	Ger	NL	Fra	Ita	Spa	Gre	
Mama	532	1007	924	1350	595	767	3903	784	396	145	10403
Colon-recto	113	568	512	689	310	283	516	313	251	77	3632
Próstata	.	1095	385	633	459	63	.	154	218	43	3050
Estómago	14	97	66	107	77	45	32	91	71	44	644
Pulmón	76	349	511	385	217	172	164	156	145	98	2273
Riñón	17	92	66	95	107	44	74	70	45	21	631
Páncreas	14	154	95	114	75	32	84	50	48	11	713
Vejiga	14	242	228	259	174	75	41	126	122	32	1313
Cérvix útero	25	238	29	353	84	23	77	41	50	19	939
Curpo útero	64	150	147	175	53	89	351	107	90	18	1244
Ovario	81	118	96	201	58	75	222	84	58	34	1027

En resumen, los aspectos más relevantes del diseño de EPIC son los siguientes:

- Es una muestra muy amplia, que permite alcanzar una gran potencia estadística.
- Incluye múltiples regiones de Europa con gran variedad en el riesgo de incidencia de cáncer.
- Incluye una población con gran rango de variación en los patrones de dieta, desde la dieta mediterránea (Grecia, sur de Italia, España, sur de Francia) a la dieta típica del centro y norte de Europa.
- Se utilizaron cuestionarios alimentarios con un amplio y detallado número de alimentos.
- Se utiliza un método de calibración de los datos de los cuestionarios de dieta que permite reducir los errores de medición.

- Se obtuvieron muestras de sangre en la mayoría de sujetos del estudio (75 %) que se usan para medir biomarcadores de exposición y para estudiar interacciones entre factores hormonales, genéticos y nutricionales.

Resultados

Cáncer colorectal

En 1997 se publicó un voluminoso informe de un comité internacional de expertos (6) que resumió la evidencia científica existente hasta el año 1996 sobre el efecto de los alimentos y nutrientes en las diferentes localizaciones tumorales. En relación al cáncer colorectal, el informe concluye que existía una evidencia convincente de que un alto consumo de vegetales reduce el riesgo de cáncer colorectal; de que probablemente la carne roja y el alcohol incrementan el riesgo, y de que posiblemente un alto consumo de fibra y carotenoides reduzcan el riesgo.

Se llegó además a la conclusión de que posiblemente el consumo de pescado no estaba asociado con este tipo de cáncer.

En relación a la *fibra*, basado en un amplio conjunto de hallazgos epidemiológicos y experimentales de los últimos 20 años, y mecanismos biológicos plausibles, la mayoría de las guías dietéticas recomiendan el incremento de consumo de fibra para reducir el riesgo de cáncer colorectal. Esta visión tradicional ha sido desafiada, sin embargo, por los resultados de recientes estudios prospectivos sobre consumo de fibra y cáncer colorectal (7) y ensayos controlados al azar sobre el efecto en la recurrencia de pólipos colorectales adenomatosos, en los cuales no fue observado ningún efecto protector. El estudio EPIC, por el contrario, basado en 1.065 casos de cáncer colorectal (8) halló una asociación significativamente negativa entre fibra dietética y el riesgo de cáncer colorectal. El riesgo relativo calibrado fue de 0,58 para la comparación de los quintiles más elevados de consumo (entre 32 a 36 g/día) versus el más bajo (12 g/día). Ninguna fuente de fibra (cereal, vegetales o fruta) fue más protectora que otra. Después de la publicación de estos resultados, se sugirió que éstos pudieran estar influenciados por la ausencia de ajuste por el consumo de folate en el modelo de análisis y que podría ser la razón de la discrepancia entre el estudio EPIC y otros estudios de cohorte. Por ello se repitió el análisis, utilizando más casos de cáncer (1.721) y ajustado para el consumo de folate (9). Los resultados fueron los mismos, confirmando el efecto protector del consumo de fibra en esta cohorte europea. Quizás la heterogeneidad de la definición utilizada de fibra, el error de medición del consumo y/o el bajo nivel y amplitud de la ingesta de otros estudios puedan explicar esta discrepancia con los resultados de EPIC.

Por lo que respecta al consumo de *carne*, la evidencia de los últimos años confirma que un alto consumo de carnes rojas y procesadas

está positivamente asociado con el riesgo de cáncer colorectal. Un meta-análisis de 13 estudios cohorte (10) sobre el consumo de carne y cáncer colorectal ha mostrado un 12-17% de aumento de riesgo de cáncer colorectal por cada incremento de consumo de 100 g/día de carne roja y un 49 % de aumento de riesgo para cada incremento de 25 g/día de carne procesada. Otra revisión sistemática de todos los estudios epidemiológicos publicados entre 1973 y 1999 (11) concluye que el riesgo de cáncer colorectal aumenta un 24 % por cada incremento de consumo de 120 g/día de carne roja, y un 36 % por cada incremento de 30 g/día de carne procesada. Los resultados del estudio EPIC confirman la asociación positiva entre carne roja y carne procesada y el riesgo de cáncer colorectal (12). Basado en 1.329 casos de cáncer colorectal, se observó un incremento del 35 % de riesgo de cáncer colorectal cuando se comparaban un consumo de más de 160 g/día de carne roja y carne procesada respecto a un consumo de menos de 20 g/día. Se observó además, que el aumento del riesgo de cáncer colorectal asociado con alto consumo de carne roja y carne procesada era más elevado en el grupo que consumía menos fibra que en el grupo que consumía más fibra. El consumo de carne blanca (aves), por el contrario, no estuvo asociado con el riesgo de cáncer colorectal. Los mecanismos que pueden explicar el aumento de riesgo de cáncer en relación al alto consumo de carnes rojas y procesadas se relacionan con el aporte de nitritos, nitratos y nitrosaminas, con el aporte de hierro hemático (mioglobina) que parece ser la fuente más importante en la formación endógena de nitrosaminas (13) y por el aporte de aminas heterocíclicas e hidrocarburos policíclicos aromáticos que se forman cuando la carne se cocina a altas temperaturas. Por otra parte, este estudio de EPIC ha mostrado que el consumo de *pescado* está inversamente relacionado con el riesgo de cáncer colorectal.

Se observó una reducción del 31% del riesgo de cáncer colorectal para un consumo de pescado de más de 80 g/día respecto a un consumo de menos de 10 g/día. El efecto del consumo de pescado fue relativamente independientemente de los niveles de consumo de carne roja y carne procesada.

Existe evidencia suficiente de que la *obesidad* general aumenta el riesgo de cáncer colorectal (14). Los resultados del estudio EPIC confirman esta evidencia (15), y sugieren que el efecto de la obesidad puede ser más importante para el cáncer de colon que para el de recto. Muestran además que la circunferencia de la cintura y el ratio cintura cadera, indicadores de obesidad abdominal, están fuertemente asociado con el cáncer de colon en ambos sexos.

En relación al cáncer colorectal, existe asimismo evidencia suficiente sobre la asociación con el alto consumo de *alcohol* (16). El estudio EPIC, basado en 1.833 casos de cáncer colorectal (17), ha mostrado un aumento del riesgo del 8% por cada incremento del consumo de alcohol de 15 g/día a lo largo de la vida, que es más alto para el cáncer de recto que para el de colon y más alto para el consumo de cerveza que para el consumo de vino.

Cáncer de próstata

El informe de la World Cancer Research Fund (WCRF) y la American Investigation of Cancer Research (AICR) (6) concluyó en 1997 que no había evidencia epidemiológica de una convincente o probable relación causal con la dieta. Consideró que posiblemente el consumo de vegetales reduce el riesgo de cáncer de próstata, pero la evidencia fue considerada inconsistente para las frutas. El consumo de tomate, la más importante fuente de licopeno ha sido asociado con la reducción del riesgo de cáncer de próstata, pero la evidencia es inconsistente, y un efecto protector está aún por confirmar.

Los resultados de EPIC (18) acerca de la incidencia de cáncer de próstata y el consumo de *vegetales y frutas* confirman la evidencia científica previa que indica que esta asociación no era muy probable. Basada en 1.104 casos de cáncer, no se observó ninguna asociación estadísticamente significativa entre el total de vegetales, vegetales crucíferos, total de fruta, o total de fruta y total de vegetales combinados. Un posterior análisis basado en los niveles plasmáticos de *7 carotenoides, retinol y alfa y gamatocoferol* en 966 casos y 1.064 controles de la cohorte EPIC (19) mostró que los niveles plasmáticos de esos nutrientes no estaban asociados al cáncer de próstata. Sin embargo, los niveles de licopeno y la suma de carotenoides se encontraron asociados a una reducción del riesgo de estadios o grados avanzados del cáncer de próstata.

Cáncer de pulmón

El informe del comité internacional de expertos (6) resumió la evidencia científica sobre efecto de los alimentos y nutrientes basado en resultados de 7 estudios cohorte y 17 estudios caso-control, publicados hasta esa fecha, concluyendo que existía una evidencia suficiente de que dietas abundantes en verduras y frutas (particularmente vegetales verdes y zanahorias) protegían contra el cáncer de pulmón.

Señaló además que probablemente los carotenoides y posiblemente la alta ingesta de vitamina C, vitamina E y selenio están asociados a una reducción del riesgo. Posteriormente, un análisis de 8 estudios de cohorte (20) encontró un efecto protector en las frutas [Riesgo Relativo (RR)=0.77; intervalo de confianza al 95 % (IC)=0.67-0.87] con una relación de dosis respuesta significativa ($P \text{ trend} < 0.001$), pero el efecto fue más débil y rozando el límite de significancia para vegetales (RR=0.88; CI 95% =0.78-1.0) sin relación de dosis respuesta.

Se llegó a la conclusión de que había una reducción modesta en el riesgo de cáncer de pulmón, principalmente atribuible a las frutas, pero no para los vegetales. Otro reciente meta-análisis (21) mostró un leve efecto protector significativo de frutas y vegetales en estudios caso-control, pero en estudios cohorte, el efecto protector fue observado en frutas [odds ratio (OR)=0.86; IC 95% = 0.78-0.94], pero no para vegetales.

Los resultados del estudio EPIC basado en 860 casos son consistentes con estos meta-análisis (22). Se encontró una relación inversa entre el consumo total de *frutas* y el cáncer de pulmón (RR para el quintil más elevado de consumo relativo al más bajo =0.60; IC 95% = 0.46-0.78), pero no observamos una asociación entre el consumo total de vegetales o de diversos subtipos de vegetales y cáncer de pulmón. Sin embargo, en un nuevo análisis con más casos (1.126) y más años de seguimiento (23), cuando se estratificó entre fumadores y no fumadores, se observó una asociación significativa inversa entre el consumo de vegetales y el cáncer de pulmón en fumadores, pero no entre los no-fumadores.

Cáncer Gástrico

En 1997 el informe de la WCRF y la AICR (6) llegó a la conclusión de que había una evidencia convincente, basada en 6 estudios de cohorte y 32 estudios caso-control de que una dieta alta en vegetales y frutas protegía contra el cáncer de estómago. Se consideró que probablemente la vitamina C y posiblemente los carotenos, ajo y cebollas, y cereales integrales reducan el riesgo de cáncer de estómago. Por otra parte se estableció que probablemente un elevado consumo de comidas con abundante sal, alimentos conservados en sal y posiblemente el consumo de carne a la parrilla o a la barbacoa incrementaba el riesgo, mientras que se concluyó que no había una evidencia suficiente acerca del efecto de las nitrosaminas y la carne procesada.

Un meta-análisis publicado posteriormente (21) sobre 17 estudios caso-control, halló un efecto protector significativo asociado a un incremento de 100 g/día de consumo de fruta (OR=0.69; IC 95 % =0.62-0.77) o vegetales (OR=0.78; IC 95 % =0.71-0.86). Sin embargo, el meta-análisis de cinco estudios de cohorte mostró un débil y no significativo efecto protector para la fruta (OR=0.89; IC 95 % =.73-1.09 o vegetales (OR=0.89; IC 95 % =0.75-1.05). Parece que el efecto protector de las frutas es más alto que el de los vegetales, particularmente en estudios asiáticos. Otro meta-análisis y evaluación de expertos (24) mostró también un fuerte y elevado efecto protector en el consumo de fruta y vegetales en estudios caso-control, pero en estudios cohorte se observó un débil y significativo efecto protector para la fruta (RR=0.85; IC 95 % = 0.77-0.95), pero no para el consumo de vegetales (RR=0.94; IC 95 % = 0.84-1.06).

En el estudio EPIC (25), el análisis basado en 330 adenocarcinomas gástricos, observó una asociación negativa pero no significativa para el total del consumo de *vegetales* y para el consumo de cebollas y ajo para el tipo histológico intestinal. Se encontró asimismo una asociación negativa pero no significativa entre el consumo de *frutos cítricos* y los tumores gástricos del cardia, pero con el tipo distal. Se ha analizado además, la relación con el consumo y los niveles plasmáticos de vitamina C (26). Se encontró que no había una asociación con la ingesta de vitamina C, pero sí que había una fuerte y significativa asociación negativa con los niveles en plasma de *vitamina C* (OR= 0.55; CI 95 % = 0.31-0.97 cuando se compara el quintil más alto con el más bajo), que fue más pronunciada en sujetos que presentaban un alto consumo de carne roja y procesada, que incrementan la formación endógena de nitrosaminas. Se observó asimismo, una asociación negativa de los niveles plasmáticos de *ciertos carotenoides (beta-criptoxantina y zeoxantina), retinol y vitamina E*.

Esto demuestra el role de compuestos de las frutas y verduras en relación al cáncer gástrico, efecto que se diluye, cuando se miden a través de cuestionarios alimentarios, que pueden tener errores de medición. Los resultados de EPIC muestran asimismo que el alto consumo de *fibras de cereales* (27) está asociado a una reducción del riesgo de cáncer gástrico.

Por lo que respecta a la *carne* y la carne procesada (28), el estudio EPIC encontró una asociación positiva entre cáncer gástrico distal (no cardia) y el consumo total de carne (RR=3.52; IC 95 % = 1.96-6.34 para un incremento de consumo de 100 g/día), carne roja (RR=1.73; IC 95 % = 1.03-2.88 para un incremento de 50 g/día, y carne procesada (RR=2.45; IC 95 % = 1.43-4.21) para un incremento de 50 g/día). La asociación con el total de carne fue observada sólo en individuos infectados por *Helicobacter Pylori*, lo que sugiere que existe una importante interacción entre ambos en el desarrollo del cáncer gástrico. Este novedoso hallazgo de EPIC ha estado confirmado en relación a la carne procesada por un meta-análisis de 6 estudios de cohorte (29) que encuentra una asociación positiva significativa. Como hemos visto en relación al cáncer colorectal, existe una importante evidencia que muestra que las carnes rojas aportan hierro hemático, que parece ser la principal fuente para la formación de nitrosaminas endógenas. El estudio EPIC ha estimado un índice de formación endógena de *nitrosaminas* sobre la base de estudios en voluntarios que miden la correlación entre el consumo de carne roja y la formación de compuestos nitrosados medidos en heces, y se ha encontrado una fuerte asociación positiva entre ese índice y el riesgo de cáncer gástrico distal (30). El riesgo de cáncer gástrico fue además más elevado entre los infectados por *Helicobacter pylori* y los que tenían niveles plasmáticos más bajos de vitamina C.

No se observó por el contrario una asociación con el consumo de nitrosaminas exógenas (NDMB) lo que confirma que en la actualidad la exposición a nitrosaminas exógenas es menos importante que la formación endógena de nitrosaminas.

Cáncer de mama

El informe de la WCRF y la AICR (6), basado en 3 estudios prospectivos y 19 estudios casos-control, concluyeron en 1997 que probablemente un alto consumo de vegetales y frutas disminuye el riesgo de cáncer de mama, mientras que probablemente el alcohol y posiblemente la grasa animal y la grasa saturada incrementan el riesgo de cáncer de mama. Sin embargo, un análisis conjunto de 8 estudios de cohorte no mostró un efecto protector de frutas y vegetales (31), mientras que otro meta-análisis (21) observó un débil efecto protector en 15 estudios casos-control, pero no encontró asociación en 10 estudios de cohorte.

Los resultados del estudio EPIC confirman que el consumo total de *frutas y vegetales* no está probablemente asociado con la reducción del riesgo de cáncer de mama (32). El estudio basado en 3.659 casos de cáncer de mama invasivo no mostró una asociación para el total de vegetales, total de frutas, total de zumos de frutas y vegetales, ni para 6 subgrupos específicos de vegetales.

Una publicación reciente de análisis conjunto de 53 estudios epidemiológicos ha mostrado sólidas evidencias acerca de la relación causal entre el consumo de alcohol y el cáncer de mama. Un incremento de 10 g/día de alcohol fue asociado con un aumento del 7% del riesgo de cáncer de mama, siendo considerado el alcohol como la causa de alrededor del 4% del cáncer de mama en los países desarrollados. Los resultados del estudio EPIC (33) basados en 4.285 casos, confirman también la asociación entre el consumo de *alcohol* y cáncer de mama.

La asociación entre grasa animal y saturada y cáncer de mama ha sido muy controvertida durante la última década y continúa siendo motivo de polémica. Un análisis conjunto de 7 estudios de cohorte publicado hace 10 años (34) no observó una asociación con el porcentaje de calorías provenientes de los lípidos, con ningún tipo de grasas. Sin embargo otro más reciente meta-análisis de 14 estudios cohorte y 34 estudios caso-control (35) mostró un incremento del 19 % en el riesgo de cáncer de mama para el más alto nivel de consumo de grasas saturadas. Los resultados de EPIC, aún no publicados, confirman que existe un débil pero significativo aumento del riesgo de cáncer de mama asociado al consumo de *grasas saturadas*. Resultados del EPIC en Cambridge (UK) donde utilizaron dos instrumentos simultáneos de medida en la evaluación del consumo alimentario (un FFQs y un registro de ingesta de una semana) muestran hallazgos muy interesantes que pueden explicar parte de las inconsistencias de esta asociación (8). En esta subcohorte, cuando la asociación era medida con FQQ, no se observó ninguna asociación del cáncer de mama con el consumo de grasas saturadas, pero cuando la asociación era medida con el registro alimentario de una semana, un consumo diario de alrededor de 35 g doblaba el riesgo de sufrir cancer de mama en comparación con las mujeres que consumían menos de 10 g diarios de grasas saturadas. Éste es un ejemplo del impacto de los errores de medida de los FFQs y muestra que ciertas asociaciones entre la dieta y el cáncer, especialmente cuando la magnitud del efecto es baja, son indetectables cuando están basados sólo en FFQ.

Exista cierta evidencia de que los ácidos grasos poliinsaturados de tipo omega 3, provenientes del consumo de pescado, pueden tener un rol en el proceso de cancerogénesis. El análisis de 4.776 casos de cáncer de mama de EPIC (36) mostró sin embargo que no hay relación entre el consumo de pescado y el riesgo de cáncer de mama.

Existe actualmente por otro lado suficiente evidencia de que la obesidad está asociada al aumento de riesgo de cáncer de mama en mujeres post-menopausícas. Los resultados de EPIC (37) muestran que en mujeres, que no consumen terapia hormonal sustitutoria, la obesidad general es un predictor significativo del riesgo de cáncer de mama, pero que en cambio la obesidad abdominal (circunferencia de cintura y/o cadera y la razón entre ambas) no está asociada con un exceso de riesgo después de ajustar el IMC.

Bibliografía

1. Riboli E, Hunt KJ, Slimani N, Ferrari P, Norat T, Fahey M, Charrondière UR, Hémon B, Casagrande C, Vignat J, Overvad K, Tjønneland A, et al. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection. *Public Health Nutr.* 2002; 5 (6B): 1113-24.
2. Bingham S, Riboli E. Diet and cancer--the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Nat Rev Cancer.* 2004; 4 (3): 206-15.
3. Kaaks R, Slimani N, Riboli E. Pilot phase studies on the accuracy of dietary intake measurements in the EPIC project: overall evaluation of results. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Epidemiol.* 1997; 26 Suppl 1: S26-36.
4. Kaaks R, Riboli E. Validation and calibration of dietary intake measurements in the EPIC project: methodological considerations. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Epidemiol.* 1997; 26 Suppl 1: S15-25.
5. Slimani N, Deharveng G, Unwin I, Southgate DA, Vignat J, Skeie G, Salvini S, Parpinel M, Møller A, Ireland J, Becker W, Farran A, et al. The EPIC nutrient database project (ENDB): a first attempt to standardize nutrient databases across the 10 European countries participating in the EPIC study. *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61 (9): 1037-56.
6. World Cancer Research Fund & American Investigation of Cancer Research (1997). *Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: a global perspective* BANTA Book Group, Menasha, USA.
7. Park Y, Hunter DJ, Spiegelman D, Bergkvist L, Berrino F, van den Brandt PA, Buring JE, Colditz GA, Freudenheim JL, Fuchs CS, Giovannucci E, Goldbohm RA, et al. Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer: a pooled analysis of prospective cohort studies. *JAMA.* 2005; 294 (22): 2849-57.

8. Bingham SA, Day NE, Luben R, Ferrari P, Slimani N, Norat T, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjønneland A, Overvad K, et al. Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. *Lancet*. 2003; 361 (9368): 1496-501.
9. Bingham SA, Norat T, Moskal A, Ferrari P, Slimani N, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjønneland A, Overvad K, Martinez C, et al. Is the association with fiber from foods in colorectal cancer confounded by folate intake? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14 (6): 1552-6.
10. Sandhu MS, White IR, PcPherson K. Systematic review of the prospective cohort studies on meat consumption and colorectal cancer risk: A meta-analytical approach. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10, 439-446.
11. Norat T, Lukanova A, Ferrari P, Riboli E. Meat consumption and colorectal cancer risk: dose-response meta-analysis of epidemiological studies. *Int J Cancer* 2002; 98 (2), 241-256.
12. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, Overvad K, Olsen A, Tjønneland A, Clavel F, Boutron-Ruault MC, Kesse E, et al. Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97 (12): 906-16.
13. Bingham SA, Pignatelli B, Pollock JR, Ellul A, Malaveille C, Gross G, Runswick S, Cummings JH, O'Neill IK. Does increased endogenous formation of N-nitroso compounds in the human colon explain the association between red meat and colon cancer? *Carcinogenesis*. 1996 17 (3): 515-23.
14. International Agency of Research on Cancer (2002) Weight control and physical activity. IARC Handbooks of cancer prevention. Vol.6 IARC Press, Lyon, France.
15. Pischon T, Lahmann PH, Boeing H, Friedenreich C, Norat T, Tjønneland A, Halkjaer J, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Guernec G, Bergmann MM, et al. Body size and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst*. 2006; 98 (13): 920-31.
16. Boffetta P, Hashibe M, La Vecchia C, Zatonski W, Rehm J. The burden of cancer attributable to alcohol drinking. *Int J Cancer*. 2006; 119 (4): 884-7.
17. Ferrari P, Jenab M, Norat T, Moskal A, Slimani N, Olsen A, Tjønneland A, Overvad K, Jensen MK, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, et al. Lifetime and baseline alcohol intake and risk of colon and rectal cancers in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Int J Cancer*. 2007; 121 (9): 2065-72.
18. Key TJ, Allen N, Appleby P, Overvad K, Tjønneland A, Miller A, Boeing H, Karalis D, Psaltopoulou T, Berrino F, Palli D, Panico S, et al. Fruits and vegetables and prostate cancer: No association among 1,104 cases in a prospective study of 130,544 men in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2004; 109 (1), 119-124.
19. Key TJ, Appleby PN, Allen NE, Travis RC, Roddam AW, Jenab M, Egevad L, Tjønneland A, Johnsen NF, Overvad K, Linseisen J, et al. Plasma carotenoids, retinol, and tocopherols and the risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(3):672-681.
20. Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS, Albanes D, Beeson WL, van den Brandt PA, Feskanich D, Folsom AR, Fraser GE, Freudenheim JL, Giovannucci E, Goldbohm RA, et al. Fruits, vegetables and lung cancer: a pooled analysis of cohort studies. *Int J Cancer* 2003;107 (6), 1001-1011.
21. Riboli E, Norat T. Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *Am J Clin Nutr* 2003; 78 (3 Suppl), 559S-569S.
22. Miller AB, Altenburg HP, Bueno-de-Mesquita B, Boshuizen HC, Agudo A, Berrino F, Gram IT, Janson L, Linseisen J, Overvad K, Rasmussen T, Vineis P, et al. Fruits and vegetables and lung cancer: Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer*. 2004; 108 (2): 269-76.
23. Linseisen J, Rohrmann S, Miller AB, Bueno-de-Mesquita HB, Büchner FL, Vineis P, Agudo A, Gram IT, Janson L, Krogh V, Overvad K, Rasmussen T, et al. Fruit and vegetable consumption and lung cancer risk: updated information from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer*. 2007; 121(5): 1103-14.
24. International Agency for Research on Cancer (2003) Fruit and vegetables. IARC Handbooks of cancer prevention. Vol.8 IARC Press, Lyon, France.
25. González CA, Pera G, Agudo A, Bueno-de-Mesquita HB, Ceroti M, Boeing H, Schulz M, Del Giudice G, Plebani M, Carneiro F, Berrino F, Sacerdote C, et al. Fruit and vegetable intake and the risk of stomach and oesophagus adenocarcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). *Int J Cancer*. 2006; 118 (10): 2559-66.
26. Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Sabate J, Slimani N, Norat T, Friesen M, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, et al. Plasma and dietary vitamin C levels and risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). *Carcinogenesis*. 2006; 27 (11): 2250-7.
27. Mendez MA, Pera G, Agudo A, Bueno-de-Mesquita HB, Palli D, Boeing H, Carneiro F, Berrino F, Sacerdote C, Tumino R, Panico S, Berglund G, et al. Cereal fiber intake may reduce risk of gastric adenocarcinomas: The EPIC-EURGAST study. *Int J Cancer*. 2007; 121 (7): 1618-23.

28. González CA, Jakszyn P, Pera G, Agudo A, Bingham S, Palli D, Ferrari P, Boeing H, del Giudice G, Plebani M, Carneiro F, Nesi G, et al. Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98 (5): 345-54.
29. Larsson SC, Orsini N, Wolk A. Processed meat consumption and stomach cancer risk: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98 (15): 1078-87.
30. Jakszyn P, Bingham S, Pera G, Agudo A, Luben R, Welch A, Boeing H, Del Giudice G, Palli D, Saieva C, Krogh V, Sacerdote C, et al. Endogenous versus exogenous exposure to N-nitroso compounds and gastric cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST) study. *Carcinogenesis.* 2006; 27 (7): 1497-501.
31. Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS, Adami HO, Beeson WL, van den Brandt PA, Folsom AR, Fraser GE, Freudenheim JL, Goldbohm RA, Graham S, Miller AB, et al. Intake of fruits and vegetables and risk of breast cancer: a pooled analysis of cohort studies. *JAMA* 2001; 285 (6), 769-776.
32. van Gils CH, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, Boshuizen HC, Lahmann PH, Clavel-Chapelon F, Thiebaut A, Kesse E, Sieri S, Palli D, Tumino R, Panico S, et al. Consumption of vegetables and fruits and risk of breast cancer. *JAMA* 2005; 293 (2), 183-193.
33. Tjønneland A, Christensen J, Olsen A, Stripp C, Thomsen BL, Overvad K, Peeters PH, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita HB, Ocke MC, Thiebaut A, Fournier A, et al. Alcohol intake and breast cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Cancer Causes Control.* 2007; 18 (4): 361-73.
34. Hunter DJ, Spiegelman D, Adami HO, Beeson L, van den Brandt PA, Folsom AR, Fraser GE, M.D., Goldbohm RA, Graham S, Howe GR, Kushi LH, Marshall JR, et al. Cohort studies of fat intake and the risk of breast cancer--a pooled analysis. *N Engl J Med.* 1996; 334 (6): 356-61.
35. Boyd NF, Stone J, Vogt KN, Connelly BS, Martin LJ, Minkin S. Dietary fat and breast cancer risk revisited: a meta-analysis of the published literature, *Br J Cancer.* 2003; 89 (9), 1672-1685.
36. Engeset D, Alsaker E, Lund E, Welch A, Khaw KT, Clavel-Chapelon F, Thiébaud A, Chajès V, Key TJ, Allen NE, Amiano P, Dorronsoro M, et al. Fish consumption and breast cancer risk. The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer.* 2006; 119 (1): 175-82.
37. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, van Gils CH, Khaw KT, Tehard B, Berrino F, Tjønneland A, Bigaard J, Olsen A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, et al. Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). *Int J Cancer.* 2004; 111 (5): 762-71.

The background of the slide is a light blue gradient. On the right side, there is a stylized, semi-transparent illustration of a DNA double helix. Overlaid on this and the background are several geometric elements: a series of parallel lines forming a fan-like shape, several dark blue circles of varying sizes, and thin, intersecting lines that create a network-like pattern.

Capítulo 15

Nutrigenómica y alimentos

Capítulo 15

Nutrigenómica y alimentos

Sabina Díaz, Isabel Baiges y Lluís Arola

Departamento de Bioquímica y Biotecnología.
Universidad Rovira i Virgili de Tarragona

Resumen

Entre los alimentos actuales con mayor potencial industrial está el grupo de los denominados alimentos funcionales, aquéllos que son efectivos en la prevención y mejora de patologías concretas. Para la calificación de un alimento como funcional es imprescindible evaluar su eficacia cuando está listo para el consumo humano.

Los sistemas de evaluación de eficacia son diversos: siguen un proceso que comienza con estudios “in vitro”, continúa “in vivo”, con animales experimentales, y termina con estudios de intervención en humanos. Es un proceso largo y de coste elevado que debe realizarse cuando el alimento está terminado. Para evitar fracasos y reducir los estudios de intervención a los casos imprescindibles, hay que disponer de metodologías que permitan predecir, con la mayor seguridad posible, la futura eficacia del alimento que está en producción.

Los conocimientos actuales de la nutrigenómica, ciencia que estudia la interacción de los nutrientes con los genes, han permitido constatar que hay muchos genes cuya

expresión es sensible a la presencia de determinados principios activos en los alimentos. Del estudio de su modificación se obtienen conclusiones significativas para comprender la interacción de moléculas bioactivas con los procesos patológicos.

Combinando el estudio de la expresión de genes clave en patologías concretas con marcadores de punto final de procesos metabólicos, es posible diseñar un sistema de evaluación de eficacia de alta fiabilidad y bajo coste relativo. En este estudio se propone una metodología utilizable y se demuestra su interés científico e industrial.

Alimentos funcionales

La interrelación entre alimentos y salud es, hoy por hoy, una evidencia científica que ha conducido a la industria de los alimentos, a la comunidad científica, a las organizaciones de consumidores y las autoridades sanitarias a interesarse por las posibilidades de utilizar los alimentos como vehículo para mantener y promover un buen estado de salud y bienestar, así como para reducir el riesgo de sufrir determinados tipos de enfermedades.

Una correcta alimentación es esencial para este propósito, aunque a menudo no suficiente. Los avances científicos, especialmente en Japón en la segunda mitad del siglo pasado, llevaron a establecer que los alimentos pueden utilizarse, más allá de sus valores intrínsecos en nutrición, como vehículos para administrar sustancias bioactivas que modifiquen procesos bioquímicos o fisiológicos y mejoren el estado de salud.

De aquí nace el concepto de alimento funcional, una tipología de alimentos que, utilizando una definición de consenso en la Unión Europea derivada del proyecto FUFOS (1), se corresponde con aquellos alimentos para los que se puede demostrar satisfactoriamente que ejercen un efecto beneficioso sobre una o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de modo tal que su consumo resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas. Los alimentos funcionales deben seguir siendo alimentos, y deben producir sus efectos en las cantidades en que normalmente se consumen en la dieta. Un alimento funcional puede ser un alimento natural, un alimento al que se ha añadido un componente, o un alimento al que se le ha quitado un componente mediante procesos tecnológicos o biológicos; también puede tratarse de un alimento en el que se ha modificado la naturaleza de uno o más de sus componentes, o cualquier combinación de estas posibilidades.

En la Europa actual la interrelación entre nutrición óptima y vida sana está ganando aceptación pública, y los consumidores están buscando cada vez más información sobre los alimentos que compran. La industria alimentaria quiere aprovechar los conocimientos generados en ciencia básica de alimentos y está invirtiendo en proyectos de innovación, especialmente en el campo de los alimentos funcionales (2),

aunque para la inversión industrial tan solo es un incentivo real un alimento del que se puedan trasladar los efectos positivos sobre la salud a los consumidores de manera satisfactoria. De aquí surge la necesidad de crear alegaciones que permitan certificar los efectos de los alimentos sobre la salud de forma creíble para los consumidores. Resulta evidente que la evolución y desarrollo de los alimentos funcionales ha de ir acompañada de sistemas de control y seguimiento para garantizar que las alegaciones se utilicen para promover la salud pública y la protección de los consumidores contra la información que pueda ser falsa o errónea (3).

En 2006, el Parlamento Europeo aprobó una legislación para regular las alegaciones de salud para los alimentos (4) que establece que deben ser científicamente probadas y claras, y no ambiguas para los consumidores. Una alegación se define como cualquier mensaje o representación que afirme, sugiera o implique que un alimento tiene características particulares. Las “alegaciones nutricionales” hacen referencia a la energía que aportan y a los nutrientes u otras sustancias que contengan o no contengan. Las “alegaciones de salud” refieren la existencia de una interrelación entre un alimento o uno de sus componentes y la salud. La normativa prohíbe, con alguna excepción, la utilización de alegaciones nutricionales o de salud que no tengan establecidos “perfiles nutricionales” (por ejemplo, alto en sal, rico en ácidos grasos saturados), perfiles que deben ser definidos a partir de conocimientos científicos sobre dieta, nutrición y su relación con la salud y, especialmente, sobre el papel de nutrientes y otras sustancias con un efecto nutricional o fisiológico en las patologías crónicas.

La aplicación de la nueva regulación europea impone pues unas nuevas reglas del juego para la industria de los alimentos: para comercializar productos como alimentos funcionales hay que garantizar, con una base científica sólida, su relación con la salud de los consumidores, es decir, hay que haber demostrado su eficacia.

Eficacia de los alimentos funcionales

Habitualmente, el diseño de un nuevo alimento funcional comienza a partir de conclusiones de estudios epidemiológicos que correlacionan dietas particulares con prevalencia de determinadas patologías en poblaciones representativas. En ocasiones, el análisis diferencial de la dieta permite identificar sustancias bioactivas utilizables en la producción de alimentos a partir de las cuales es posible plantear un nuevo alimento funcional. Tras identificar la sustancia bioactiva de interés, en primer lugar habrá que comprobar si es segura con los procedimientos bien estandarizados de la industria farmacéutica. En segundo lugar habrá que determinar en sistemas “in vitro” cuál es su diana bioquímica y qué efectos ejerce sobre ella en relación con el proceso patológico para el que la sustancia en estudio tiene interés. Posteriormente habrá que aumentar el nivel de complejidad pasando a estudios “in vivo” con animales experimentales para validar los estudios “in vitro”. En este punto, surge la necesidad de utilizar “biomarcadores”, entendidos como una característica que es objetivamente medible y evaluable como indicador de un proceso biológico normal, de un proceso patológico o de una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica (5). Los biomarcadores se han convertido en un elemento esencial en la ciencia de la nutrición para demostrar, en estudios de intervención —es decir, en estudios en humanos—, los efectos de nutrientes o sustancias bioactivas en un periodo de tiempo razonable y con un coste también moderado, aunque la información que aportan es parcial y, en ocasiones insuficiente, y hay que buscar combinaciones de biomarcadores u otras estrategias para obtener información concluyente (6). La Comunidad Científica europea acepta un sistema de biomarcadores de complejidad creciente (7) que permiten obtener conclusiones fiables de los estudios de intervención en humanos,

que son habitualmente concluyentes para fijar las bases científicas de las alegaciones nutricionales y de salud. Es un proceso largo y costoso que no puede aplicarse hasta que un nuevo alimento esté terminado y sea directamente utilizable para el consumo humano.

Durante el proceso de diseño de un nuevo alimento, la industria necesita sistemas de validación de eficacia que permitan predecir, con la máxima seguridad, los resultados de la utilización de planteamientos innovadores. Hay que poder prever el potencial de sustancias bioactivas para utilizarlas en la producción de alimentos funcionales, y hay que poder seguir su evolución a lo largo de las operaciones necesarias para la fabricación del alimento. No es posible realizar estudios completos en cada momento del proceso por lo que es necesario diseñar estrategias metodológicas que, con la máxima fiabilidad posible, permitan predecir los resultados finales. Evidentemente, hay que comprobar la eficacia de productos terminados y hay que hacerlo mediante estudios de intervención en poblaciones representativas y con rigor estadístico, pero no es viable ni tiene sentido realizar estudios de intervención durante el proceso de fabricación.

En la última década, la ciencia de la nutrición ha comprendido que los efectos de la nutrición sobre la salud y la enfermedad no pueden entenderse sin un profundo conocimiento sobre cómo actúan los nutrientes a nivel molecular. Los factores que llevan a esta conclusión son tres (8): el primero se deriva de los proyectos de secuenciación completa de genomas que permiten visualizar la importancia de los genes en nutrición cuando se demuestra que los nutrientes afectan directamente la expresión génica. El segundo está basado en la evidencia de que los micro y macronutrientes son potentes señales que influyen en el funcionamiento celular y juegan un importante papel en el control homeostático.

El tercero se deriva del conocimiento de que la predisposición genética tiene un papel significativo en el desarrollo de las tres principales causas de mortalidad ligadas a la dieta, como son la patología cardiovascular, la diabetes tipo II y el cáncer. De aquí surge la nutrigenómica, ciencia que trata de estudiar las influencias de la nutrición sobre el genoma (9, 10, 11). Desde la perspectiva de la nutrigenómica, los nutrientes son señales de la dieta que son detectadas por sistemas de sensores celulares, como pueden ser los miembros de la superfamilia de los receptores nucleares, que modulan la expresión génica, la expresión proteica y, consiguientemente, la producción de metabolitos. La nutrigenómica trata de identificar genes que influyen en el riesgo de las patologías relacionadas con la dieta a gran escala y de entender el mecanismo que está en la base de la predisposición genética.

Las tecnologías “ómicas” que son la base metodológica de la nutrigenómica, no son tan sólo necesarias para el desarrollo del estudio de la interacción genes-nutrientes sino que también, en el contexto de la ciencia de la nutrición, pueden utilizarse como biomarcadores de la predisposición individual y de la eficacia de nutrientes o ingredientes (12). Aunque son especialmente útiles para, desde una visión de sistema, visualizar diferencias entre grupos, su desarrollo metodológico permite utilizarlas para la producción de alimentos funcionales en la fase de diseño, utilizando como biomarcadores genes clave en la interacción de nutrientes o ingredientes con el metabolismo que varían sus niveles de expresión en una situación patológica.

Biomarcadores para el desarrollo de alimentos funcionales

Según nuestra hipótesis, un sistema eficiente para seguir la eficacia de los alimentos funcionales durante su diseño industrial puede consistir en identificar genes clave con expresión sensible a nutrientes o sustancias bioactivas

y utilizarlos en sistemas “in vitro” como biomarcadores que permitan, de forma rápida y relativamente económica, predecir su interés en la prevención o mejora de estados patológicos durante el desarrollo del producto. Para obtener conclusiones consistentes, hay que utilizar en paralelo biomarcadores de proceso; es decir, hay que poder controlar procesos metabólicos clave, no únicamente cuantificando metabolitos de punto final, sino especialmente siguiendo procesos dinámicos que permitan obtener información sobre la modificación de vías o procesos metabólicos significativos.

La metodología que hemos diseñado tiene dos fases y consiste, en primer lugar, en seleccionar un sistema celular óptimo como modelo experimental según la patología que se desee prevenir o paliar. En la primera fase, en la que se trabaja con marcadores de proceso, se trata de identificar procesos clave en las patologías en estudio para poder seguirlos experimentalmente, por ejemplo, captación de glucosa por células de tejidos periféricos en el estudio de la diabetes tipo 2. En la segunda fase, relativa a la utilización de marcadores génicos, hay que empezar identificando los genes de interés. En principio un estudio bibliográfico es suficiente en esta fase, aunque puede completarse con la realización de *arrays* de alta densidad para conocer los genes que alteran su expresión cuando las células son tratadas con la sustancia bioactiva en estudio. A partir de esta información hay que seleccionar los genes que se utilizarán como biomarcadores para construir un *array* de baja densidad con los genes biomarcadores mediante el que se pueda evaluar los cambios en la expresión génica de los genes seleccionados en células tratadas con las sustancias bioactivas en estudio. Antes del *array* de baja densidad, hay que fijar las condiciones experimentales, lo que puede hacerse seleccionando genes clave y valorando su expresión mediante PCR *real time* para fijar la concentración de la sustancia bioactiva y el tiempo óptimos para observar un efecto determinado.

Proantocianidinas y metabolismo lipídico

Diversos estudios (13, 14, 15) han mostrado que las proantocianidinas presentes en la dieta son biomoléculas activas. Actúan como cardioprotectoras (16), antioxidantes (17), antigenotóxicas (18), antiinflamatorias (19) y anticancerígenas (20). La acción protectora de las proantocianidinas puede extenderse a alteraciones metabólicas que son factores de riesgo para las patologías cardiovasculares, como la resistencia a la insulina, dislipemia, hipertensión arterial y obesidad, colectivamente agrupadas como síndrome metabólico. Son, por tanto, moléculas potencialmente utilizables en la prevención de estas patologías.

En este contexto y utilizando la metodología descrita, nuestro grupo ha estudiado el potencial de las proantocianidinas como moléculas correctoras de las alteraciones del metabolismo lipídico. En trabajos previos observamos una disminución del 50% en los niveles circulantes de triacilglicérols en ratas, cinco horas después de la administración de un extracto de proantocianidinas de pepita de uva (GSPE), junto con una positiva alteración de la distribución del colesterol ligado a lipoproteínas (21). Partimos de una evidencia experimental obtenida en estudios “in vivo” y queremos demostrar que utilizando nuestra propuesta metodológica podemos llegar a la misma conclusión mediante un sistema “in vitro”.

Por una parte, usamos lo que hemos denominado marcadores de proceso. En este caso, hemos cuantificado la síntesis *de novo* de triacilglicérols y colesterol por células hepáticas HepG2 y su secreción al medio. El tratamiento de las células con proantocianidinas a dosis moderadas, de acuerdo con los resultados mostrados en la Figura 1, página 242, nos indica que se produce una disminución del 83% de la secreción de triacilglicérols al medio y una disminución del 48% de la secreción de colesterol total,

un resultado notable que concuerda con los resultados obtenidos “in vivo” y que confirma el interés de las proantocianidinas como principio activo utilizable en alimentación funcional para corregir dislipemias. Sin embargo, es un resultado insuficiente para validar la metodología propuesta, pero que aun así nos sirve, “in vitro”, como marcador de proceso.

Para completar la metodología, utilizamos en paralelo los biomarcadores genéticos, analizando la expresión de genes clave del metabolismo de los lípidos y de su control. La intención es encontrar perfiles de expresión condicionados por las proantocianidinas que permitan predecir un efecto positivo en relación con la corrección de las dislipemias. De este modo, dispondremos de un procedimiento más rápido y práctico con el que seguir la elaboración de alimentos funcionales con proantocianidinas.

La selección de genes clave que puedan servirnos como biomarcadores no es una tarea sencilla, ya que ha de centrarse en un número pequeño y representativo. Hemos utilizado información bibliográfica de forma exhaustiva y, también, las conclusiones a las que han llegado los fabricantes de *arrays* de baja densidad para pruebas diagnósticas en clínica. Al final, hemos elegido un conjunto significativo de genes directamente implicados en el metabolismo y transporte de lípidos, y los genes que codifican los receptores nucleares relacionados con el metabolismo lipídico, ya que pensamos que son candidatos especialmente sugerentes por su doble condición de interactuar con los nutrientes y con el ADN.

La expresión de los genes varía mucho con el tiempo por lo que es necesario fijar bien el momento de su estudio. Para no tener que realizar *arrays* de baja densidad para concretar el tiempo de estudio, seleccionamos algún gen que consideramos clave en el proceso y evaluamos su respuesta a tiempos cortos y largos.

FIGURA 1 | Síntesis de *ново* y secreción de triacilgliceroles y colesterol.

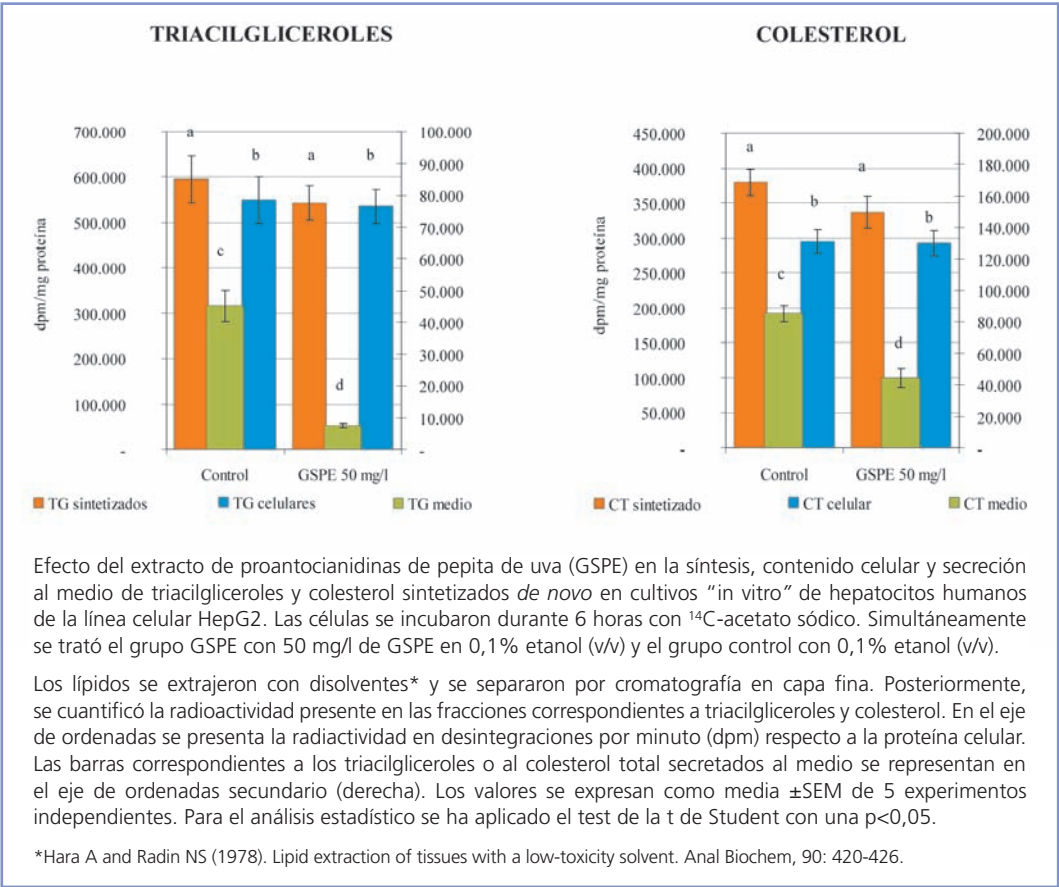


Tabla I. Expresión del gen de la Nieman-Pick C1 like1

0 mg/l GSPE		50 mg/l GSPE		150 mg/l GSPE	
1 hora	9 horas	1 hora	9 horas	1 hora	1 hora
0,99 ^a ± 0,08	0,99 ^a ± 0,03	0,87 ^a ± 0,07	0,64 ^b ± 0,11	0,87 ^a ± 0,08	0,87 ^a ± 0,08

Efecto del extracto de proantocianidinas de pepita de uva (GSPE) sobre los niveles de mRNA de *Nieman-Pick C1 like1* (NPC1L1) en células HepG2.

Las células HepG2 fueron incubadas con una dosis de GSPE de 50 mg/l durante 9 horas. Tanto el grupo control como el tratado con GSPE contenían una concentración de etanol de 0,1% (v/v). La expresión de los genes se determina extrayendo el ARN celular, fabricando el cDNA y realizando una PCR cuantitativa a tiempo real a partir de 20 ng de cDNA utilizando sondas Taqman® y β-actina como gen de referencia.

Los valores se refieren a variación sobre el gen de referencia y se expresan como media ± SEM. Para el análisis estadístico se ha aplicado una ANOVA de un factor con una p<0.05, utilizando el test de Scheffé para discriminación a posteriori.

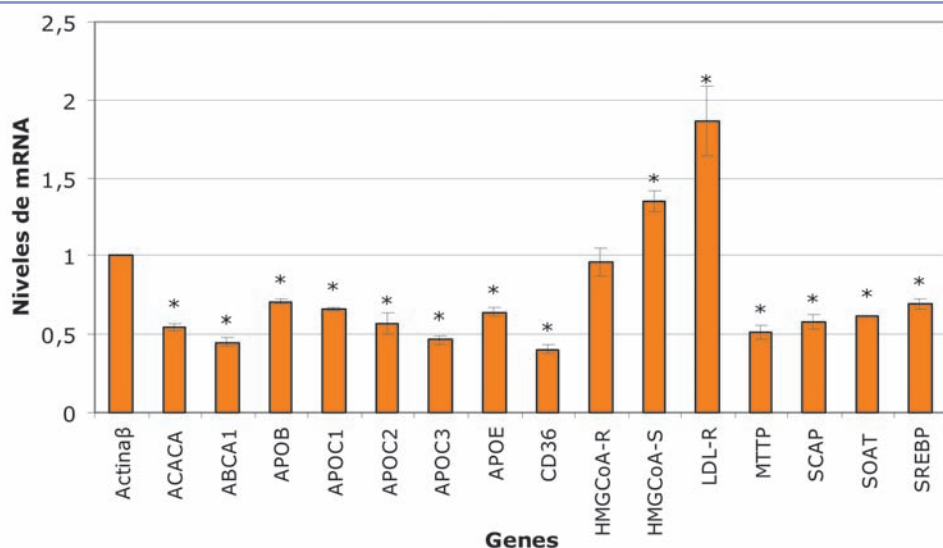
Lógicamente, la elección de un único tiempo conlleva pérdida de información porque no todos los genes responden a la misma velocidad, pero la necesaria simplificación del proceso obliga a limitar las condiciones experimentales. El mismo proceso nos sirve para fijar la concentración de trabajo óptima de la sustancia bioactiva. Si se trata de entender mecanismos, lógicamente, habrá que analizar los resultados con mayor profundidad, pero no es éste el objetivo del presente trabajo.

Para el caso ejemplo que nos ocupa, hemos seleccionado un gen que consideramos clave en el metabolismo del colesterol, el que

codifica la proteína *Nieman-Pick C1 like1* (NPC1L1), una proteína que tiene un papel crítico en la absorción de colesterol en el intestino y que también se expresa en células hepáticas donde puede facilitar la captación de colesterol libre del medio y modular su excreción en forma de ácidos biliares (22, 23). Los resultados obtenidos, mostrados en la Tabla 1, nos llevaron a seleccionar un tiempo largo de 9 horas y una dosis media de 50 mg/l.

Fijadas las condiciones de trabajo, realizamos un *array* de baja densidad con los genes y resultados referidos en las Figuras 2 y 3 (página 244).

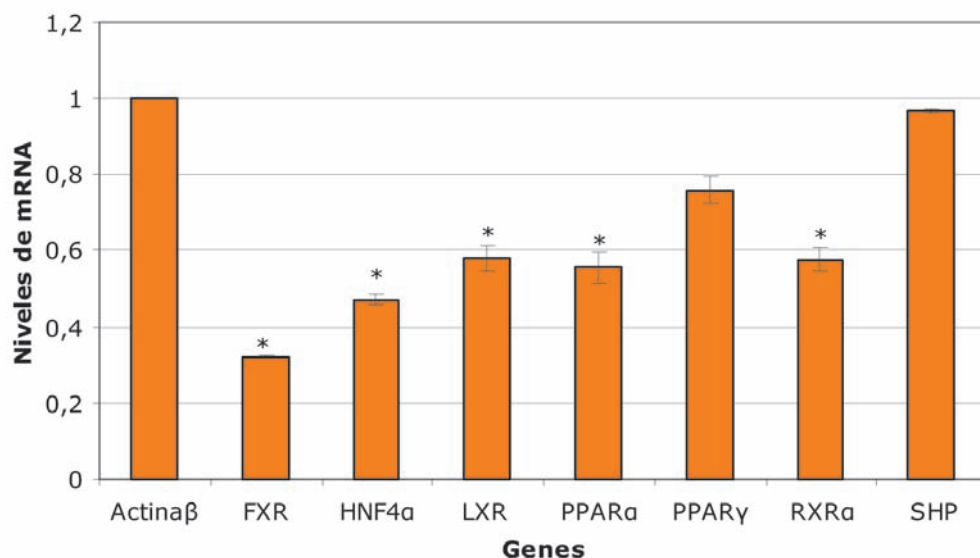
FIGURA 2 | Expresión de genes biomarcadores: metabolismo lipídico.



–Efecto del extracto de proantociandinas de pepita de uva (GSPE) sobre los niveles de mRNA de los genes: α Acetil-CoA carboxilasa (ACACA), *ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 1* (ABCA1), apolipoproteína B (APOB), apolipoproteína C1 (APOC1), apolipoproteína C2 (APOC2), apolipoproteína C3 (APOC3), apolipoproteína E (APOE), receptor de trombospondina (CD36), 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMGCoA-R), 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintetasa 1 (HMGCoA-S), receptor de LDL (LDL-R), proteína microsomal transferidora de triglicéridos (MTTP), *SREBP cleavage activating protein* (SCAP), esterol o-ail transferasa (SOAT) y *sterol regulatory element binding transcription factor 1* (SREBP).

Las células HepG2 fueron incubadas con una dosis de GSPE de 50 mg/l durante 9 horas. Tanto el grupo control como el tratado con GSPE contenían una concentración de etanol de 0,1% (v/v). La expresión de los genes se determina extrayendo el ARN celular, fabricando el cDNA y utilizando una tarjeta microfluidica Taqman® Low Density Array (TLDA) con la b-actina como gen de referencia.

Los valores se refieren a variación sobre el gen de referencia y se expresan como media \pm SEM. Para el análisis estadístico se ha aplicado el test de la t de Student con una $p < 0.05$.

FIGURA 3 | Expresión de genes biomarcadores: receptores nucleares

Efecto del extracto de proantocianidinas de pepita de uva (GSPE) sobre los niveles de mRNA de los genes: *farnesoid X receptor* (FXR), *hepatic nuclear factor 4 alpha* (HNF4α), *liver X receptor* (LXR), *peroxisome proliferator-activated receptor alpha* (PPARα), *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPARγ), *retinoid X receptor, alpha* (RXRα), *small heterodimer partner* (SHP).

Las células HepG2 fueron incubadas con una dosis de GSPE de 50 mg/l durante 9 horas. Tanto el grupo control como el tratado con GSPE contenían una concentración de etanol de 0,1% (v/v). La expresión de los genes se determina extrayendo el ARN celular, fabricando el cDNA y utilizando una tarjeta microfluidica Taqman® Low Density Array (TLDA) con la β-actina como gen de referencia.

Los valores se refieren a variación sobre el gen de referencia y se expresan como media ± SEM. Para el análisis estadístico se ha aplicado el test de la t de Student con una $p < 0.05$.

En relación con los genes biomarcadores del metabolismo y transporte de lípidos, se observa (Figura 2, en página anterior) una represión generalizada de todos ellos en nuestro modelo de células HepG2. Únicamente los genes que codifican para la sintetasa del 3-hidroxi-3-metilglutarilCoA y para el receptor de LDL se encuentran significativamente sobre expresados, mientras que no se observa ninguna variación en el gen de la reductasa del 3-hidroxi-3-metilglutarilCoA.

Estos resultados son sugerentes, ya que indican una disminución en la síntesis de lípidos, un aumento en su degradación y una cierta inhibición de los procesos que permiten su excreción celular, especialmente por lo que al colesterol se refiere. También sugieren una modificación del transporte de colesterol en un sentido positivo para corregir una situación de dislipemia. Concuerdan con los resultados "in vivo" y los obtenidos "in vitro" con marcadores de proceso.

En relación con los genes que codifican para los receptores nucleares (Figura 3) se observa una represión generalizada para todos los genes estudiados excepto para el gen que codifica para SHP. Los resultados obtenidos indican que las proantocianidinas son capaces de alterar la expresión de estos genes, importantes en el contexto de regulación del metabolismo como respuesta a la presencia de nutrientes. Los receptores analizados modifican su expresión en el mismo sentido que anteriormente se ha comentado: disminuyendo la síntesis de ácidos grasos y triacilglicerol.

Sin duda es posible e interesante profundizar en el sentido de los sugerentes cambios de expresión génica reseñados, pero sin embargo este trabajo no tiene ese propósito. Nuestra intención es proponer una metodología, una estrategia novedosa para el diseño de alimentos funcionales que añade valor a la nutrigenómica. Los resultados obtenidos demuestran que es una metodología utilizable para las proantocianidinas y las dislipemias. Habrá que probar otras sustancias bioactivas en ésta u otras situaciones patológicas para poder generalizar esta conclusión.

Agradecimientos: La realización del presente trabajo ha sido posible por la financiación obtenida del proyecto CENIT MET-DEV-FUN.

Bibliografía

1. Diplock AT, Aggett PJ, Aswell M, Bornet F, Fern EB and Roberfroid MB (1999). Scientific concepts of functional foods in Europe. Consensus document. *Br J Nutr.* 81 Suppl 1: S1-27.
2. http://etp.ciaa.be/documents/general_presentation.pdf
3. Palou A, Pico C and Bonet ML (2004). Food safety and functional foods in the European Union: obesity as a paradigmatic example for novel food development. *Nutr Rev.* 62 Suppl 1: S69-181.
4. http://ec.europa.eu/food/food/labellingnutrition/claims/common_position05_en.pdf
5. Zeger SL (1999). Biomarkers and surrogate endpoints. Advancing Clinical Research and Applications. NIH & FDA Symposium. April 15-17
6. Weber P, Flühmann B, Eggersdorfer M (2006). Development of bioactive substances for functional foods – Scientific and other aspects. Heinrich M, Müller WE, Galli C (eds). Local Mediterranean Food Plants and Nutraceuticals. Forum Nutr. Basel, Karger, vol 59, pp 171-181
7. Aggett PJ, Antoine JM, Asp NG, Bellisle F, Contor L, Cummings JH, Howlett J, Müller DJ, Persin C, Pijls LT, Reckemmer G, Tuijelaars S, Verhagen H. (2005). PASSCLAIM: consensus on criteria. *Eur J Nutr.*; 44 Suppl 1:i5-30
8. Müller M and Kersten S (2003). Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat. Rev. Genet.*, 4: 315-322
9. Ordovás JM and Mooser V (2004). Nutrigenomics and nutrigenetics. *Curr. Opin. Lipidol.*, 15: 101-108
10. van Ommen B. (2004). Nutrigenomics: exploiting systems biology in the nutrition and health arenas. *Nutrition*, 20: 4-8.
11. Afman L and Müller M (2006). Nutrigenomics: from molecular nutrition to prevention of disease. *J. Am. Diet. Assoc.*, 106: 569-576
12. Kussmann M, Raymond F and Affolter M (2006). OMICS-driven biomarker discovery in nutrition and health. *J. Biotechnol.*, 124: 758-787
13. Arts IC, Hollman PC (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 81: 317S-325S.
14. Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C and Jimenez L (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45:287-306.
15. Pinet M, Bladé C, Salvado MJ, Blay M, Pujadas G, Fernández-Larrea J, Arola L and Ardèvol A. (2006). Procyanidin effects on adipocyte-related pathologies. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 46: 543-550
16. Bagchi D, Sen C., Ray SD, Das OK, Bagchi M, Preuss HG and Vinson JA (2003). Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res.*, 523-524:87-97.
17. Puiggròs F, Llópiz N, Ardèvol A, Bladé C, Arola L and Salvado MJ (2005). Grape seed procyanidins prevent oxidative injury by modulating the expression of antioxidant enzyme systems. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 6080-6086
18. Llópiz N, Puiggròs F, Céspedes E, Arola L, Ardèvol A, Blade C and Salvado MJ (2004). Antigenotoxic effect of grape seed procyanidin extract in Fao cells submitted to oxidative stress. *J Agric Food Chem.*, 52: 1083-1087.
19. Li WG, Zhang X., Wu YJ and Tian X (2000). Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds. *Acta Pharmacol Sin.*, 22: 1117-1120.

20. Agarwal C, Sharma Y, Zhao J and Agarwal R (2000). A polyphenolic fraction from grape seeds causes irreversible growth inhibition of breast carcinoma MDA-MB468 cells by inhibiting mitogen-activated protein kinases activation and inducing G1 arrest and differentiation. *Clin Cancer Res.*, 6: 2921-2930.
21. Del Bas JM, Fernández-Larrea J, Blay MT, Ardèvol A, Salvadó MJ, Arola L, Bladé C (2005). Grape seed procyanidins improve atherosclerotic risk index and induce liver CYP7A1 and SHP expression in healthy rats. *FASEB Journal*, 19, doi: 10.1096/fj.04-3095fje, 479-481.
22. Altmann SW, Davis HR, Jr, Zhu LJ, Yao X, Hoos LM, Tetzloff G, Iyer SP, Maguire M, Golovko A, Zeng M, Wang L, Murgolo N and Graziano MP (2004). Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science* 303: 1201-1204.
23. Davies JP, Scott C, Oishi K, Liapis A and Ioannou YA (2005). Inactivation of NPC1L1 causes multiple lipid transport defects and protects against diet-induced hypercholesterolemia. *J. Biol. Chem.* 280: 12710-12720.

