

# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

Comparación de los Niveles de Ácidos Grasos de la Membrana Eritrocitaria de Adultos Sensibilizados y no Sensibilizados de la Ciudad de Hermosillo, Sonora



**TESIS**

Que para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias de la Salud

Presenta

**Julio Cesar Lozano Aviles**

Hermosillo, Sonora

Diciembre de 2016

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## AGRADECIMIENTOS

Me es grato agradecer a la Universidad de Sonora, mi *alma mater*, en cuyo resguardo me formé como un profesionalista calificado y con un alto sentido de la ética profesional. A la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, y al CONACYT, por el apoyo económico, indispensable para la realización del presente trabajo de tesis.

Al Programa de Maestría en Ciencias de la Salud, en cuyo nicho inicié mi formación como investigador, para desempeñarme en la labor científica. Al Departamento de Ciencias Químico Biológicas, por darme acceso a las instalaciones del Laboratorio de Investigación Química y al Laboratorio de Análisis Clínicos e Investigación de la Universidad de Sonora (LACIUS), en donde desarrollé la parte medular de mi trabajo experimental.

Doy gracias a mi directora de tesis, la Dra. María Alba Guadalupe Corella Madueño, quien ha estado presente desde mis inicios. Gracias a su intervención es que logré ingresar al posgrado, y gracias a su continua dedicación y guía, he conseguido alcanzar esta meta.

Al M. en C. Antonio Rascón Careaga, por darme acceso a las instalaciones de su laboratorio, donde se extrajeron y analizaron la totalidad de las muestras empleadas en este trabajo.

A la M. en C. Karla Martínez, por apoyarme con la definición del método de derivatización de ácidos grasos, por realizar las corridas cromatográficas y por su apoyo como miembro de mi comité sinodal.

A la Dra. María Carmen Candia Plata, por ser una partícipe fundamental en el proyecto, por su guía académica y por su cariño.

A la Dra. Rocío Sugich Miranda y al Dra. Lourdes Aldana Madrid, por proporcionar los reactivos necesarios para las evaluaciones bioquímicas del proyecto de tesis.

A la química Sonia Zulema Souffle y a la M. en C. Andrea Ernestina Romo González, por apoyarme en el contacto con los participantes del estudio, durante la toma muestras y su procesamiento. Sin su ayuda, difícilmente habría logrado cumplir esta meta.

A Karen Valencia, por enseñarme a capturar los resultados para reporte, por contactarme con participantes. También por ser una gran amiga, compañera en mis tiempos de angustia.

A mis compañeros de generación, Max Vidal, David Ortega, Brenda Samaniego, Salvador Sagrero y Elia Salazar, por ser mis acompañantes durante todo el recorrido de mi maestría, por su amistad y por su apoyo.

Finalmente, quiero agradecer a mi familia, especialmente a mis padres, que me apoyaron en cada paso de mi formación académica. A mi esposa, Cynthia Ahideé Velázquez, por ser mi compañera y por darme aliento cuando lo necesitaba, por su comprensión y paciencia.

Como agradecimiento especial, a mi hija Luna Esmeralda Lozano Velázquez, mi motor para entrar al posgrado y mi principal motivación para no darme por vencido.

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis en honor de todos aquellos que me impulsaron a no darme por vencido. A mi directora de Tesis y a mi comité sinodal por su guía y paciencia. Pero, sobre todo, quiero dedicar esta Tesis a mi hija, Luna Esmeralda, pues sin ella no habría tenido el valor de ingresar al posgrado y materializar el presente trabajo.

## ÍNDICE

LISTA DE TABLAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
OBJETIVOS.....	x
Objetivo General.....	x
Objetivos Particulares .....	x
RESUMEN.....	xi
INTRODUCCIÓN .....	1
ANTECEDENTES.....	3
Alergia e Hipersensibilidad .....	3
Mecanismos Inmunológicos de las Reacciones Alérgicas .....	3
Inmunoglobulina E.....	4
Linfocitos Th2 .....	8
Células efectoras.....	9
Epidemiología de las Enfermedades Alérgicas .....	11
Etiología y Factores de Riesgo.....	13
Factores Genéticos .....	15
Factores Ambientales.....	16
Factores Relacionados con el Estilo de Vida .....	17
Hipótesis de la higiene.....	17
Hipótesis de la higiene.....	18
Cambios Nutricionales y Alergia .....	19
Generalidades de los Ácidos Grasos .....	21
Ácidos Grasos Saturados.....	21
Ácidos Grasos Insaturados .....	22
Ácidos grasos monoinsaturados.....	22
Ácidos grasos poliinsaturados .....	23
Metabolismo General de Ácidos Grasos Poliinsaturados.....	23

Digestión .....	26
Absorción .....	28
Distribución.....	28
Metabolismo Celular de Ácidos Grasos Poliinsaturados .....	29
$\beta$ -oxidación .....	31
Biosíntesis de Ácidos Grasos Poliinsaturados de Cadena Larga.....	32
Primera desaturación.....	33
Elongación .....	35
Segunda desaturación .....	36
Formación de Mediadores Lipídicos.....	36
Ácidos Grasos Poliinsaturados en la Patogénesis de Alergia .....	37
MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
Diseño Experimental .....	40
Población de Estudio.....	40
Reclutamiento de Voluntarios.....	40
Criterios de Inclusión.....	41
Sensibilizados .....	41
No sensibilizados .....	41
Criterios de Exclusión.....	42
Criterios de Eliminación.....	42
Toma y Procesamiento de Muestras.....	42
Citometría Hemática.....	43
Examen Coproparasitoscópico Seriado .....	43
Obtención de Suero .....	44
Obtención de Eritrocitos .....	45
Análisis de Ácidos Grasos.....	45
Preparación de Muestras y Tubos de Reacción.....	46
Agente Donador de Grupo Metilo.....	47
Obtención de Esteres Metílicos.....	47

Análisis por CG-FID .....	49
Análisis de Cromatogramas .....	51
Examen de Sensibilización.....	54
Análisis Estadístico .....	56
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	57
Población de estudio .....	57
Análisis Bioquímico y Citometría Hemática .....	58
Examen Coproparasitoscópico.....	58
Sensibilización Alérgica.....	61
Perfil de Ácidos Grasos .....	63
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	70
REFERENCIAS .....	71
ANEXOS .....	79
Anexo 1 .....	80
Anexo 2 .....	81
Anexo 3 .....	82
Anexo 4 .....	84
Anexo 5 .....	85

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla I.</b> Ácidos grasos n-3 y n-6 con mayor relevancia en sistemas biológicos	36
<b>Tabla II.</b> Composición del estándar 37 FAME MixTM, Supelco.....	63
<b>Tabla III.</b> Parámetros de ácidos grasos .....	64
<b>Tabla IV.</b> Características socio-demográficas de la población de estudio .....	70
<b>Tabla V.</b> Análisis bioquímico y citometría hemática de los grupos de estudio..	71
<b>Tabla VI.</b> Ácidos grasos incluidos en el análisis .....	75
<b>Tabla VII.</b> Perfil de ácidos grasos .....	77
<b>Tabla VIII.</b> Parámetros de ácidos grasos.....	78

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Patogénesis de la respuesta alérgica .....	17
<b>Figura 2.</b> Diferenciación de linfocitos T CD4+ en respuesta al alérgeno .....	18
<b>Figura 3.</b> Mecanismos efectores de la respuesta alérgic. ....	24
<b>Figura 4.</b> Factores de riesgo asociados con el desarrollo de alergia .....	26
<b>Figura 5.</b> Estructura de los ácidos grasos n-6 y n-3 con mayor relevancia metabólica .....	37
<b>Figura 6.</b> Digestión, absorción y distribución de ácidos grasos.....	39
<b>Figura 7.</b> Cascada de desaturación/ elongación. ....	45
<b>Figura 8.</b> Cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama (CG-FID) Agilent Technology, modelo 6890N network GC System, con autoinyector. ....	61
<b>Figura 9.</b> Equipo automatizado ImmunoCAP 100. ....	66
<b>Figura 10.</b> ELISA en sandwich.....	66
<b>Figura 11.</b> Prevalencia de sensibilización alérgica en la población de estudio.	73
<b>Figura 12.</b> Cromatograma de un individuo no sensibilizado.....	76
<b>Figura 13.</b> Cromatograma de un individuo sensibilizado.....	76

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Comparar los niveles eritrocitarios de ácidos grasos omega 6 y omega 3 de adultos con sensibilización alérgica y controles aparentemente sanos de la ciudad de Hermosillo, Sonora.

### **Objetivos particulares**

- Determinar la presencia de sensibilización alérgica mediante el fluoroensayo enzimático Phadiatop®, en el equipo automatizado ImmunoCAP 100®.
- Analizar el perfil de ácidos grasos en los eritrocitos aislados a partir de sangre total mediante cromatografía de gases con detector de ionización de flama (CG-FID).
- Determinar la proporción de ácidos grasos omega 6 (n-6) y omega 3 (n-3) mediante el análisis de los cromatogramas obtenidos por CG-FID.
- Evaluar la asociación entre sensibilización alérgica y la proporción de ácidos grasos n-6 y n-3.

## RESUMEN

La urbanización de las sociedades y la adopción del estilo de vida occidentalizado han propiciado el auge de enfermedades anteriormente poco frecuentes, como lo son las alergias. En las últimas décadas la prevalencia de enfermedades alérgicas casi se ha duplicado, con aproximadamente un tercio de la población mundial afectada. La modificaciones en las costumbres alimentarias, que tienden generalmente a la adopción de un patrón alimentario occidentalizado, el cual se caracteriza por mayor cantidad de alimentos procesados y comidas rápidas, ha dirigido y provocado el consumo inadecuado de determinados nutrientes que son esenciales para el organismo humano y en particular para el sistema inmunológico. El pobre consumo de estos factores inmunomoduladores promueve la aparición de enfermedades inflamatorias y agrava sus manifestaciones clínicas. Los ácidos grasos poliinsaturados omega 6 (n-6) y omega 3 (n-3), son un grupo de factores moduladores en cuya ingesta existe un severo desequilibrio, dado que se consume un exceso de n-6 y muy poco n-3. El presente trabajo se realizó con el objetivo de comparar los niveles eritrocitarios de ácidos grasos omega 6 y omega 3 de adultos con sensibilización alérgica y controles aparentemente sanos de la ciudad de Hermosillo, Sonora. Para su desarrollo se determinó la presencia de sensibilización alérgica utilizando un método no invasivo: fluoroinmunoensayo enzimático Phadiatop®, en el equipo automatizado ImmunoCAP 100®. Por otro lado, se determinó el perfil de ácidos grasos en los eritrocitos aislados a partir de sangre total, mediante cromatografía de gases con detector de ionización de flama (CG-FID). Esto permitió calcular diversos parámetros para conocer el estatus de los ácidos grasos n-6 y n-3 en la población de estudio. Este es el primer estudio, a nivel nacional, en el cual se comparan los niveles de ácidos grasos n-6 y n-3 de individuos sensibilizados y no sensibilizados. La prevalencia

de sensibilización alérgica fue del 40%, lo cual concuerda con la prevalencia global de enfermedades alérgicas estimada por la organización mundial de las alergias, WAO por sus siglas en inglés. Los individuos sensibilizados exhibieron mayores cifras de eosinófilos y neutrófilos en sangre periférica. Así mismo, la proporción de LA/ALA en sus eritrocitos fue superior. Estos hallazgos concuerdan con lo propuesto de la hipótesis de los ácidos grasos de Black y Sharpe. Por lo tanto, los ácidos grasos esenciales, LA y ALA, pueden ser importantes durante el desarrollo de enfermedades alérgicas.

## INTRODUCCIÓN

Diversas enfermedades humanas se deben a respuestas inmunitarias frente a antígenos ambientales no microbianos (como el polen, alimentos y fármacos) en las que participan linfocitos Th2, la inmunoglobulina E (IgE), mastocitos y eosinófilos. Estos padecimientos se denominan “enfermedades por hipersensibilidad inmediata”, porque los signos y síntomas aparecen rápidamente, a los pocos minutos de la provocación con el antígeno (Abbas y col., 2015). Los antígenos que desencadenan la hipersensibilidad inmediata se llaman alérgenos (Fajt y Wenzel, 2015).

En el ámbito clínico, estas reacciones inmunitarias son llamadas alergia, y las enfermedades asociadas con ellas se denominan alérgicas, atópicas o de hipersensibilidad inmediata (Abbas y col., 2015). Aunque, en un principio, “atopia” significó “inusual”, en alusión a la baja prevalencia que solían tener este tipo de padecimientos; ahora las enfermedades por hipersensibilidad inmediata representan el trastorno inmunitario más frecuente en la especie humana (Abbas y col., 2015). Según reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades alérgicas afectan de 30 a 40 % de la población mundial, principalmente a los habitantes de países desarrollados y en vías de desarrollo (Pawankar y col., 2011).

Tres factores de riesgo ambientales se asocian de forma consistente con el aumento en la prevalencia de trastornos alérgicos: la occidentalización, la urbanización y la afluencia (migración de áreas rurales a áreas urbanas). “Es casi una ley de la naturaleza que, en una población que adopta un estilo de vida occidentalizado, urbanizado y afluente, incrementa la prevalencia de sensibilización contra aeroalérgenos y padecimientos alérgicos” (Linneberg, 2011).

A causa de la occidentalización han ocurrido cambios dramáticos en los patrones de alimentación del ser humano, los cuales representan un riesgo para la salud ya que traen consigo continuo estrés metabólico. Estos cambios incluyen: mayor consumo de ácidos grasos omega 6 y grasas saturadas, la inclusión en la dieta de ácidos grasos trans y anti-nutrientes provenientes de la industrialización, así como menor consumo de ácidos grasos omega 3, vitaminas, antioxidantes y fibra dietética (Bosma-den Boer y col., 2012; Patterson y col., 2012). Algunas de estas sustancias no estaban presentes en la dieta ancestral del ser humano, o su consumo era balanceado en comparación con el consumo actual. Tal es el caso de los ácidos grasos n-6 y n-3, cuya proporción de consumo ancestral se encontraba en el rango 2-3:1, respectivamente, siendo sus fuentes principales los frutos secos y el pescado (van den Elsen y col., 2013).

A partir del año 1913, la proporción de consumo de ácidos grasos poliinsaturados, ha cambiado enormemente, a causa de la introducción de los aceites vegetales y la margarina en sustitución de la mantequilla y la grasa animal. Estos productos contienen grandes cantidades de ácido linoleico (LA), en algunos casos hasta un 70% del producto está conformado por este ácido graso. El AL es el precursor metabólico de los ácidos grasos n-6 (Sears y Ricordi, 2011). No obstante, el consumo de ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA), su contraparte de la serie n-3, no ha cambiado mucho con respecto a su consumo tradicional (Chilton y col., 2014).

El alto consumo de LA provoca un incremento en la síntesis de ácido araquidónico (AA) y, al mismo tiempo, promueve su transformación en prostaglandina E2 (PGE2). Este mensajero químico disminuye la producción de IL-12 e interferón gamma (INF $\gamma$ ), con lo cual induce la diferenciación de linfocitos T productores de IL-4, favoreciendo el establecimiento de alergia (Black y Sharpe, 1997). Ahora bien, considerando que el consumo actual de LA, a causa de la dieta occidentalizada, es 10 veces mayor que el consumo

ancestral, es de esperarse que la prevalencia de enfermedades crónicas, como las alérgicas, aumente a consecuencia de esto (Sears, 2010).

Hace casi 20 años, P. N. Black y S. Sharpe, formularon una hipótesis basada en este conocimiento: la hipótesis de los ácidos grasos. Esta postula que, “la composición de los lípidos de la dieta afecta el balance sistémico de los ácidos grasos y de varios de sus metabolitos; lo que a su vez, modifica la exposición (en tiempo y dosis) e interacción de las células de la inmunidad con estos agentes, influyendo en su funcionamiento; lo que pudiera aumentar el riesgo de desarrollar enfermedades alérgicas” (Black y Sharpe, 1997).

El presente trabajo de Tesis de Maestría, tiene como objetivo evaluar el perfil de ácidos grasos en individuos adultos con sensibilización alérgica y controles “aparentemente sanos”, con la finalidad de comparar la proporción de ácidos grasos poliinsaturados n-6 y n-3 entre ambos grupos, para evaluar lo postulado en la “hipótesis de los ácidos grasos”.

## **ANTECEDENTES**

### **Alergia e Hipersensibilidad**

Las reacciones de hipersensibilidad de tipo 1, son el resultado de la respuesta del sistema inmunológico en contra de antígenos ambientales no microbianos, en la que participan linfocitos T productores de IL-4, anticuerpos IgE, células cebadas (mastocitos) y eosinófilos. Los antígenos capaces de provocar estas reacciones, reciben el nombre de alérgenos. Comúnmente, este tipo de procesos ocurren en individuos con predisposición hereditaria a desarrollar y mantener respuestas patológicas con anticuerpos IgE (Abbas y col., 2015; Fajt y Wenzel, 2015).

Estos padecimientos se denominan “enfermedades por hipersensibilidad inmediata”, porque inician rápidamente, a los pocos minutos de la provocación con el antígeno. Las manifestaciones son causadas por la liberación de mediadores inflamatorios por las células cebadas, activadas por la unión del alérgeno con los anticuerpos IgE específicos adsorbidos en su superficie. Las consecuencias patológicas derivadas de la liberación de estos mediadores, pueden manifestarse como una reacción localizada (asma, rinitis alérgica, eccema) o como una enfermedad generalizada (anafilaxia) (Murphy y col., 2009; Bedolla Barajas y col., 2011). El término alergia se utiliza frecuentemente para referirse a las enfermedades por hipersensibilidad inmediata y el término atopía, se usa para describir reacciones mediadas por IgE (Abbas y col., 2015).

### **Mecanismos Inmunológicos de las Reacciones Alérgicas**

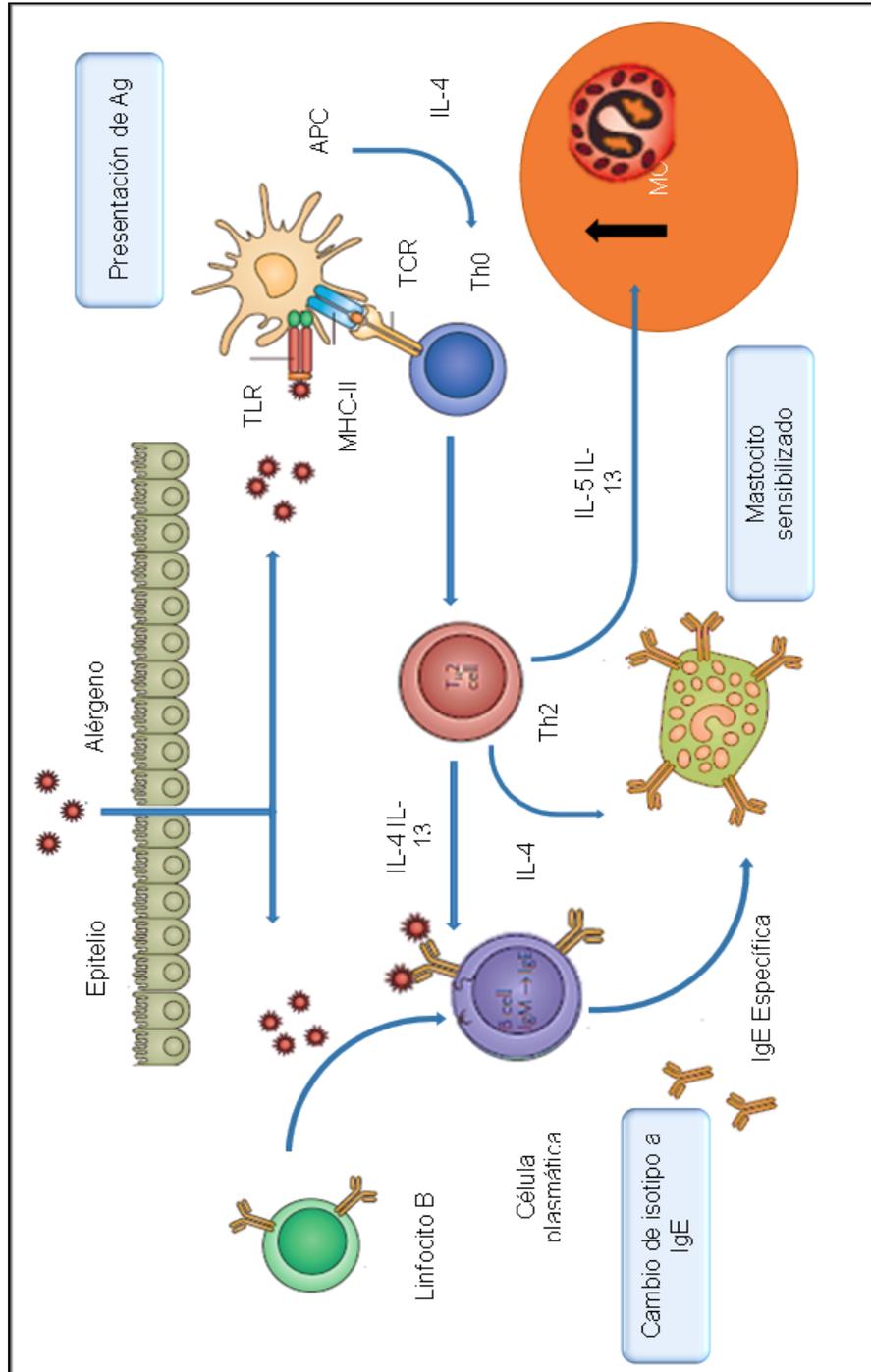
Debemos recordar, que al igual que toda respuesta inmunológica adaptativa, la alergia, tiene como requisito fundamental la exposición previa al antígeno desencadenante. La patogénesis de la alergia (Figura 1) inicia cuando un

individuo susceptible entra en contacto con un alérgeno (Murphy y col., 2009; Portelli y col., 2014). Es en este momento cuando se modela la respuesta inmune celular específica en contra de dicho agente (Besnard y col., 2011). En el caso particular de los alérgenos ambientales, podemos identificar 3 tipos diferentes de respuesta inmunológica (Figura 2); dos de las cuales ocurren en individuos no atópicos: el surgimiento de tolerancia inmunológica mediada por linfocitos T reguladores (Linneberg, 2008) y respuestas policlonales inespecíficas mediadas por linfocitos Th17 (D'Vaz y col., 2012). La tercera, ocurre en individuos atópicos; en este caso, la exposición al alérgeno resulta en el establecimiento de una respuesta inmune celular mediada por linfocitos Th2, productores de IL-4, IL-5 e IL-13, con el subsecuente establecimiento de una respuesta humoral mediada por anticuerpos de la clase IgE (Barnes, 2011; Besnard y col., 2011).

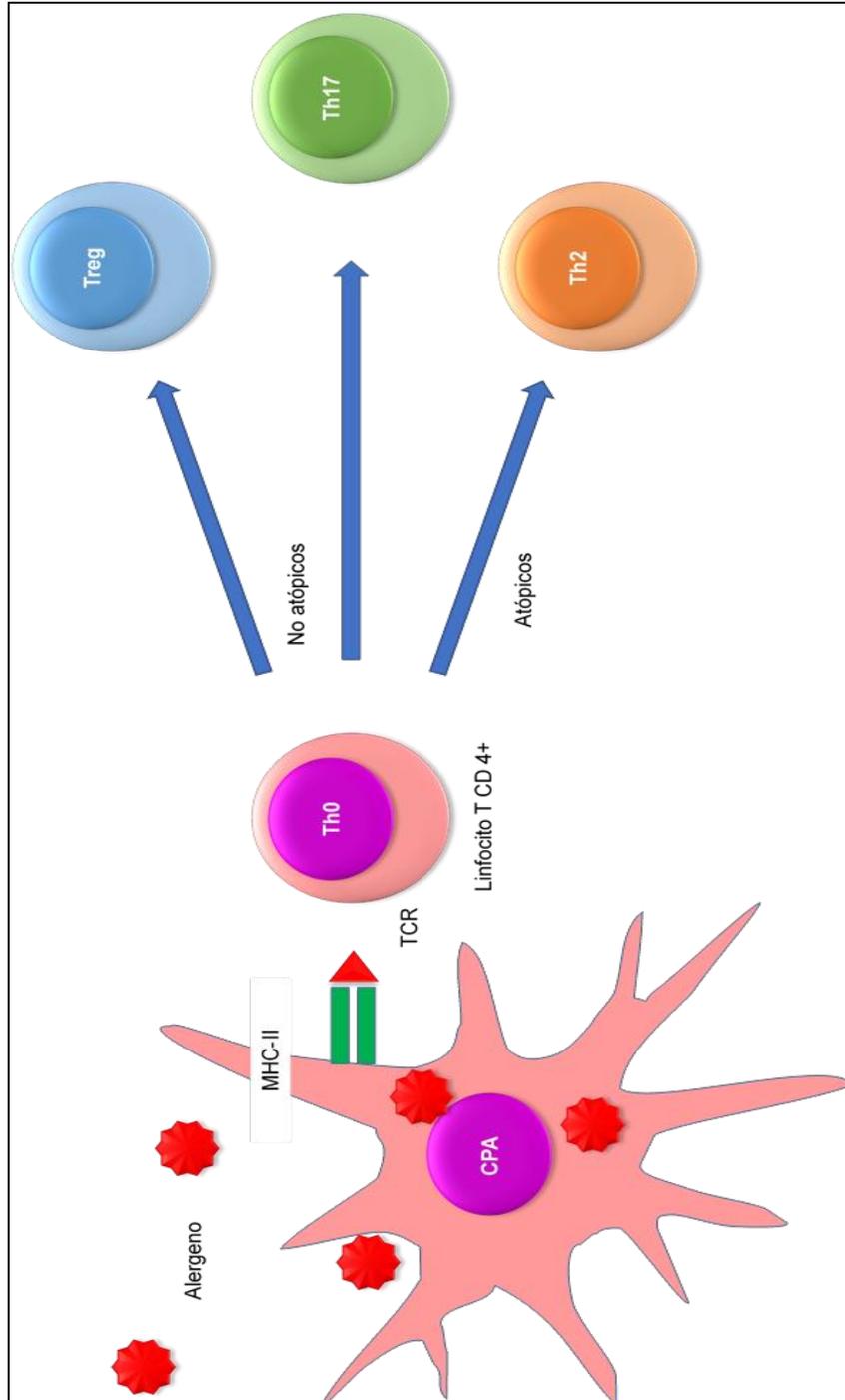
Hay un gran número de factores que pueden intervenir en el desarrollo de la respuesta alérgica. No obstante, los más relevantes son: la susceptibilidad genética del individuo, la naturaleza del alérgeno y las condiciones de exposición, la madurez y estimulación del sistema inmunológico, las condiciones ambientales y el estilo de vida (Rutkowski y col., 2015). La respuesta a esta pregunta se abordará con mayor detalle en la sección de "Etiología y Factores de Riesgo".

### **Inmunoglobulina E**

La característica fisiopatológica más importante de la alergia es la respuesta mediada por IgE. Sin embargo, la IgE también participa en la inmunidad protectora, sobre todo en respuesta a parasitarios helmintos. No obstante, se sabe más sobre su rol en el proceso alérgico.



**Figura 1.** Patogénesis de la respuesta alérgica.



**Figura 2.** Diferenciación de linfocitos T CD4+ en respuesta al alergeno.

La IgE es producida tanto por las células plasmáticas en los ganglios linfáticos que drenan el sitio de entrada del antígeno, como por las células plasmáticas en el sitio de la reacción alérgica, donde los centros germinativos se desarrollan dentro del tejido inflamado. La IgE difiere de otros isotipos de anticuerpo en que se ubica predominantemente en los tejidos, donde se encuentra unida a las superficies de las células cebadas a través del receptor de IgE de alta afinidad, FcεRI. La unión del antígeno a IgE produce enlaces cruzados entre estos receptores ocasionando la liberación de mediadores químicos por las células cebadas, lo que puede originar una reacción alérgica (Murphy y col., 2009).

Además de las células cebadas los basófilos, los eosinófilos y las células dendríticas foliculares, también expresan FcεRI. Los basófilos expresan constitucionalmente la forma funcional de dicho receptor, de manera que pueden desplegar IgE unida a superficie y participar en las reacciones alérgicas. Los eosinófilos inactivos expresan una forma no funcional del receptor para IgE, pero al estar expuestos a IL-5, comienzan a expresar la forma funcional del receptor para IgE. Debido a que, para reaccionar al ser expuestos al alérgeno, requieren ser capacitados por la estimulación previa con IL-5, su participación en los procesos alérgicos se limita a la fase tardía de la reacción (Hiroto, 2013). Por su parte, las células dendríticas foliculares humanas expresan de forma constitutiva una forma del receptor de IgE que carece de la cadena β, necesaria para inducir la activación de la célula al reconocer al alérgeno. En este caso, el receptor permite que la célula dendrítica capture al alérgeno y lo almacene para poder presentarlo a células B en los nódulos linfáticos. La estimulación de la célula dendrítica mediante este receptor, las hace fuertes inductoras de células Th2 “, y les permite perpetuar el estado alérgico (Platzer y col., 2015)

## **Linfocitos Th2**

Para que la síntesis de anticuerpos IgE tenga lugar, se necesita que las células B, que fueron activadas por el alérgeno, sean expuestas a IL-4 o IL-13. Estas citocinas son producidas por una subpoblación de linfocitos T CD4+ conocido como células Th2 (Abbas y col., 2015). El destino de una célula T CD4+ indiferenciada que responde a un péptido presentado por una célula dendrítica depende de las citocinas a las que se expone antes y durante esta respuesta, al igual que por las propiedades intrínsecas del antígeno, la dosis del antígeno y la vía de presentación. La exposición a IL-4 e IL-13 favorece el desarrollo de linfocitos Th2, en tanto que IFN- $\gamma$  e IL-12 favorecen el desarrollo de linfocitos Th1 (Murphy y col., 2009)

Otros factores que pueden impulsar el establecimiento de respuestas mediadas por células Th2 son: la sobreexpresión de citocinas epiteliales, como la IL-33 y la linfopoyetina estromal tímica (TSLP), inducida por el contacto de las células mucosas con alérgenos (Besnard y col., 2011), la insuficiente expresión de moléculas co-estimuladoras en la membrana plasmática de las células dendríticas, a causa de su activación parcial, así como la exposición a dosis bajas de alérgeno (Murphy y col., 2009), o la exposición de células T CD4+ a PGE2 (Black y Sharpe, 1997).

La principal función de los linfocitos Th2 es la de producir y secretar citocinas, siendo las principales la IL4, IL-5 e IL-13; todas ellas involucradas íntimamente en el proceso alérgico (Murphy y col., 2009). Como se indicó antes, la IL-4 y la IL-13, son responsables de la inducción de cambio de isotipo a IgE en los linfocitos B activados por el alérgeno, durante su diferenciación a células plasmáticas productoras de anticuerpos (Gould y Sutton, 2008; Murphy y col., 2009; Enroth y col., 2013).

Los individuos atópicos son susceptibles a producir grandes cantidades de anticuerpos IgE alérgeno-específicos, los cuales inundan el torrente sanguíneo, y son detectables incluso si el individuo nunca desarrolla manifestaciones clínicas de alergia. Este fenómeno es denominado sensibilización alérgica (Everson y col., 2015) y, su detección mediante pruebas “in vivo” o “in vitro”, representa una evidencia confirmatoria de que el individuo ha dado el primer paso para convertirse en alérgico (Salo y col., 2014; Portelli y col., 2014).

### **Células efectoras**

Las reacciones alérgicas son desencadenadas cuando el alérgeno es reconocido por los anticuerpos IgE unidos al receptor de alta afinidad FcεRI, ubicado en la membrana plasmática de las células cebadas (Gould y Sutton, 2008). Estas células revisten las superficies corporales y sirven para alertar al sistema inmunitario con respecto a la intrusión local de un agente extraño. Una vez activadas, inducen reacciones inflamatorias secretando mediadores químicos almacenados en gránulos preformados y mediante la síntesis “de novo” y liberación de prostaglandinas, leucotrienos y citocinas (van den Elsen y col., 2013).

La reacción alérgica inmediata causada por la degranulación de las células cebadas se acompaña de una inflamación más persistente, que se conoce como la respuesta de fase tardía. Esta respuesta tardía implica el atracción de otras células efectoras al sitio de contacto con el alérgeno, notablemente células Th2, eosinófilos y basófilos, que contribuyen en grado significativo a la fisiopatología de una respuesta alérgica (Gould y Sutton, 2008; Bulfone Paus y Bahari, 2015).

Las células cebadas se originan en medula ósea a partir de precursores mielomonocíticos. Los principales factores de crecimiento involucrados en la

diferenciación de mastocitos son: la IL-33, la TSLP y el factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF), todos ellos segregados por células involucradas en procesos alérgicos como linfocitos Th2 y eosinófilos. (Bischoff, 2008). La célula cebada está preparada para salir de médula ósea cuando expresa el receptor FcεR1 en su superficie, y su entrada en los tejidos subepiteliales es promovida por diversos quimiotractores, entre ellos destacan la PGE2 y PGD2, así como los cisteinil leucotrienos (Gould y Sutton, 2008) todos ellos segregados durante las reacciones alérgicas.

Además de la célula cebada, existen otros tipos de células efectoras importantes en las reacciones alérgicas: los eosinófilos y basófilos (Abbas y col., 2012). Al igual que los mastocitos, los eosinófilos y los basófilos diferencian en médula ósea a partir de precursores de la línea granulocítica. Los factores de crecimiento involucrados en la diferenciación de estas células efectoras, son: la IL-5 y los cisteinil leucotrienos para los eosinófilos, así como la IL-3 y la TSLP para los basófilos. Al tiempo, estas citocinas promueven el tránsito de las células maduras, impulsando su salida de médula ósea (Ohmori y col., 2009; Blanchard y col., 2009; Siracusa y col., 2012).

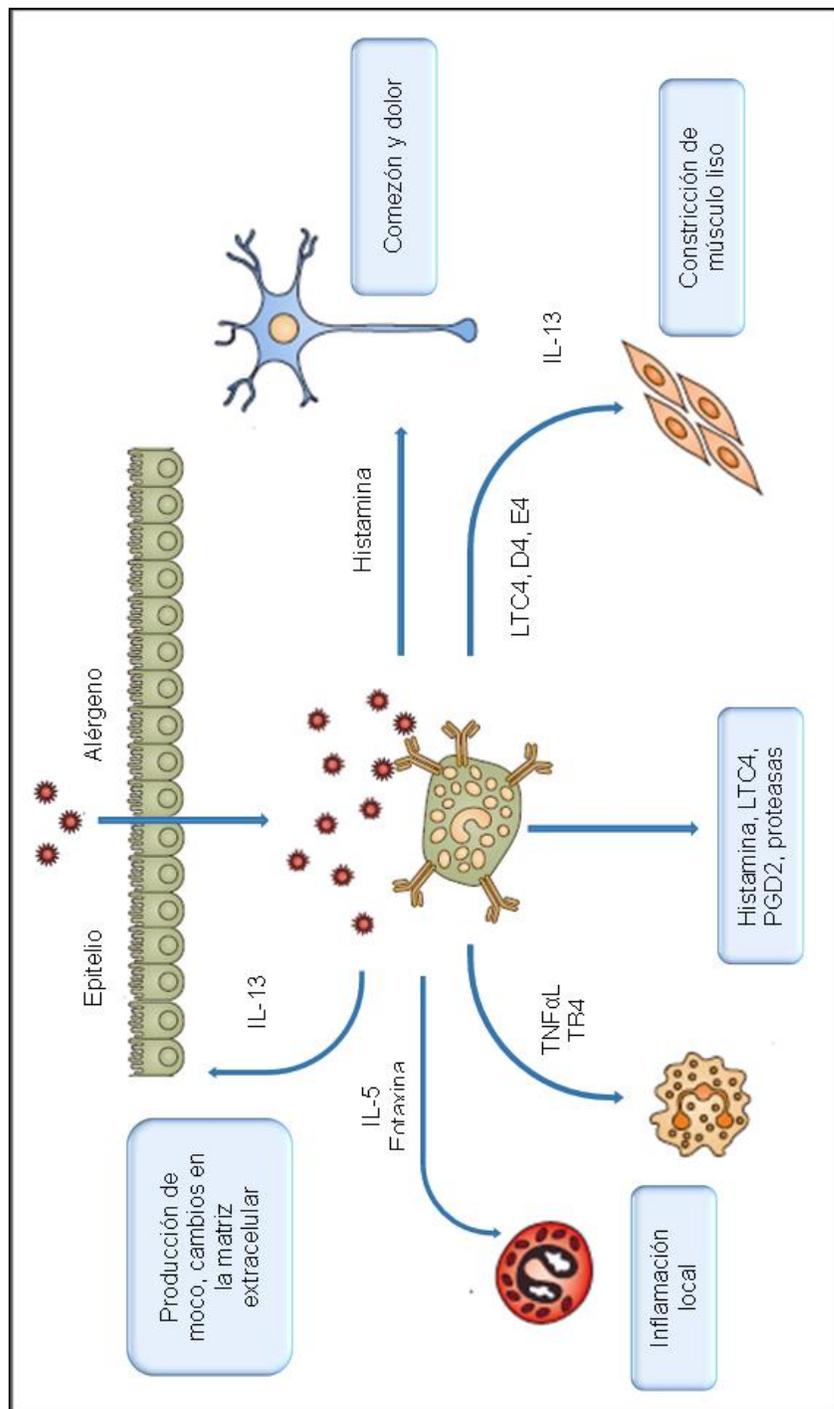
Todas estas estirpes celulares juegan papeles de gran importancia durante la fase inmediata (mastocitos y basófilos) y la fase tardía (eosinófilos) de las reacciones alérgicas. Debido a que son ellas las responsables de generar los mediadores inflamatorios que dan lugar a las manifestaciones de la respuesta alérgica. Todas ellas tienen en común la expresión del receptor de alta afinidad para la IgE, FcεR1. Este receptor destaca por ser el único receptor de inmunoglobulinas capaz de interactuar con su ligando, sin necesidad de que la IgE reconozca su antígeno específico (Kindt y col., 2007; Murphy y col., 2009). Esta propiedad inusual permite que la IgE sea adsorbida en la superficie de las células efectoras, quedando estas sensibilizadas al alérgeno, y con ello, preparadas para responder de forma casi inmediata durante exposiciones secundarias a éste (Fajt y Wenzel, 2015).

Otra propiedad relevante de estas células, es su capacidad de sintetizar y secretar numerosos mediadores inflamatorios (Figura 3), como la histamina, diversas proteasas, citocinas, quimiocinas y mediadores lipídicos, como leucotrienos y prostaglandinas, cuando son activadas por un alérgeno (van den Elsen y col., 2013; Bulfone-Paus y col., 2015). Estos mediadores son importantes en la patogénesis de las enfermedades alérgicas, debido a que son los responsables de i) la aparición de las manifestaciones clínicas, ii) incrementan el riesgo de desarrollar multisensibilización y iii) la persistencia del estado alérgico mediante mecanismos de retroalimentación positiva (van den Elsen y col., 2013).

### **Epidemiología de las Enfermedades Alérgicas**

El siglo XXI, se caracteriza por el dominio de las enfermedades crónicas no transmisibles sobre las enfermedades infecciosas, las cuales predominaron durante los siglos pasados (Pawankar y col. 2011). Aunque el término “atopia”, en un principio, tuvo el significado de “inusual” o “raro”, en alusión a la baja prevalencia de enfermedades atópicas; hoy en día, las enfermedades por hipersensibilidad mediadas por anticuerpos IgE, representan los trastornos inmunitarios más comunes de la especie humana (Abbas y col., 2015). Según reportes de la Organización Mundial de la Salud, este tipo de trastornos afectan de 30 a 40% de la población mundial, perjudicando por igual a individuos de países desarrollados y en vías de desarrollo (Pawankar y col., 2011).

A causa de su alta prevalencia, las enfermedades alérgicas representan un problema de salud serio (Lötvall y col., 2012); y relevante para nuestro País.



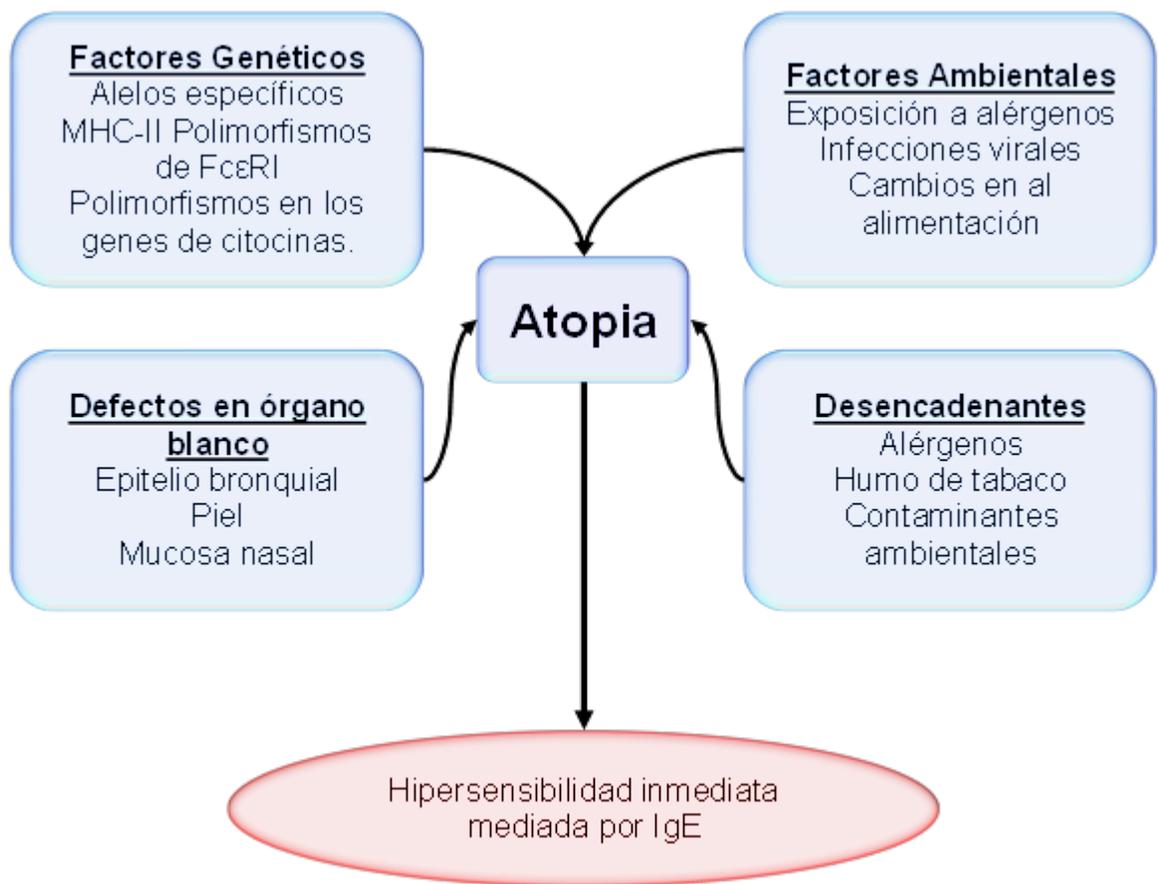
**Figura 3.** Mecanismos efectores de la respuesta alérgica

El estudio ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood), indica que los países Latinoamericanos como México, Costa Rica y Argentina, tienen tasas de incidencia de trastornos alérgicos sumamente elevadas (algo que antes no se observaba), las cuales son bastante cercanas a las que podemos esperar de naciones industrial y económicamente desarrolladas como lo son Australia, Inglaterra y Estados Unidos, mismas que encabezan la lista de mayor prevalencia a nivel global. Algo destacable es que, toda esta situación ocurre a pesar de las grandes diferencias en el estatus socio-económico, las condiciones de vida y ubicación geográfica (Asher y col., 2006), especialmente, porque algunos autores consideran que las enfermedades por hipersensibilidad inmediata son trastornos asociados con un estilo de vida propio de naciones desarrolladas; es decir, un estilo de vida occidentalizado (Linneberg, 2011).

### **Etiología y Factores de Riesgo**

Los trastornos alérgicos son enfermedades multifactoriales complejas (Figura 4), en las que factores genéticos y ambientales son importantes para su establecimiento, manifestaciones y perpetuación (Enroth y col., 2013; Portelli y col., 2014). Adicionalmente, los factores asociados con el estilo de vida del individuo, como el estrés, la actividad física y la dieta, también son relevantes (Linneberg, 2011).

Diversos estudios han detectado una tendencia progresiva hacia el incremento en la prevalencia de enfermedades alérgicas a nivel mundial en las últimas décadas (Pawankar y col., 2011). Dicha tendencia es más evidente en países desarrollados o en vías de desarrollo, que se han convertido en zonas de alta incidencia (López-Pérez y col., 2009; van den Elsen y col., 2013).



**Figura 4.** Factores de riesgo asociados con el desarrollo de alergia.

## **Factores Genéticos**

Con respecto a la herencia, estudios realizados en familias con alta prevalencia de enfermedades atópicas demuestran una clara transmisión autosómica de esta enfermedad; aunque es probable que el patrón de herencia completo sea multigénico (Abbas y col., 2015).

Se han identificado mutaciones ubicadas en distintos cromosomas que predisponen a esta patología, entre ellos, alteraciones en el gen codificante para el receptor de IgE, o la región promotora del gen de la IL-4 (Murphy y col., 2009). En individuos predispuestos las células epiteliales y de músculo liso de las mucosas, secretan cantidades altas de IL-33 la cual activa a las células dendríticas para que induzcan diferenciación a Th2 (Besnard y col., 2011), así como TSLP que interviene en la diferenciación de células cebadas en medula ósea (Bischoff, 2008). Estas citocinas generan el microambiente idóneo para el establecimiento de hipersensibilidad mediada por IgE.

Algunos autores sostienen que los antecedentes familiares son los predictores más importantes para el desarrollo de alergia, puesto que, si algún familiar directo (padres o hermanos) padece alergia, existe una probabilidad cercana al 50% de que el individuo también la padezca; tal probabilidad, aumenta casi al 70% si los dos progenitores son alérgicos (Del Rio Navarro y col., 2009; Zubeldía, 2012).

Cabe destacar que, dentro de una misma familia, el órgano diana de la enfermedad atópica no siempre es el mismo, de modo que cada miembro afectado puede manifestar una enfermedad diferente y con grados variables (asma, urticaria, rinitis). No obstante, en general, todos los afectados tienen concentraciones de IgE superiores a los valores de referencia (Abbas y col., 2015).

## **Factores Ambientales**

Los factores genéticos son muy relevantes durante el desarrollo de alergia. Sin embargo, parece imposible que las variantes genéticas asociadas con la atopia puedan desencadenar la aparición de la enfermedad sin la influencia del medio ambiente. Más aun, la participación de los factores genéticos en el reciente aumento en la prevalencia de trastornos alérgicos, está limitada por el periodo temporal tan corto en el cual se desarrolló. Debido a esto, los factores medioambientales han cobrado gran relevancia (Rutkowski y col., 2014).

La puesta en marcha y modo de acción del sistema inmune adaptativo depende de la exposición a un agente capaz de inducir la activación y diferenciación de linfocitos T, y el medio ambiente puede modular en forma cualitativa o cuantitativa la exposición a estos agentes inmunogénicos (Murphy y col., 2009). El componente cualitativo, se refiere a la amplia variedad de alérgenos a los que está expuesto el individuo a lo largo de su vida, mientras que, el componente cuantitativo, engloba aspectos relacionados con la dosis necesaria para que un antígeno pueda desencadenar una reacción atópica (Abbas y col., 2015).

La mayor parte de los alérgenos sensibilizantes entran en contacto con el organismo a través de la mucosa respiratoria, debido a que son transportados en partículas a través del viento, como el polen, heces fecales de ácaros del polvo o partículas de hollín derivadas de la quema de combustibles fósiles. Por lo tanto, la exposición a uno u otro alérgeno puede estar condicionada por el lugar de residencia del individuo (rural o urbana), las estaciones del año, fenómenos meteorológicos, la contaminación del aire por presencia de partículas de combustible, el hacinamiento, entre otras causas (Linneberg, 2011).

La exposición a dosis bajas y esporádicas de antígeno promueven las respuestas mediadas por anticuerpos IgE, pues estimulan la diferenciación de

linfocitos Th2, al ser insuficientes para activar de forma completa a las células dendríticas (Murphy y col., 2009). Por su parte, dosis altas y frecuentes de alérgenos genera tolerancia, ya que el sistema inmunológico puede diferenciar entre un antígeno asociado a un agente patogénico de un antígeno ambiental inocuo (Linneberg, 2008).

Esto puede explicar el hecho de que los individuos que habitan zonas rurales, donde están expuestos a dosis altas y constantes de alérgenos ambientales, presenten menor prevalencia de sensibilización alérgica en comparación con aquéllos que radican en entornos urbanos, que están expuestos a dosis inferiores de alérgenos ambientales (Enroth y col., 2013).

### **Factores Relacionados con el Estilo de Vida**

Una línea de razonamiento alternativa sugiere que, no solo el medio ambiente en el que el individuo radica, sino también la forma en la que se desenvuelve, puede afectar el funcionamiento del sistema inmunitario, y con ello, aumentar el riesgo de desarrollar alergia (Linneberg, 2011). A partir de esto, se han formulado varias hipótesis, con el objetivo de integrar el incremento en la prevalencia de alergias con los cambios en el estilo de vida de la sociedad general.

**Hipótesis de la higiene.** Esta hipótesis plantea que, el incremento en la prevalencia de alergia, es producto de un mejoramiento en los hábitos de higiene y la subsecuente reducción en la prevalencia de enfermedades infecciosas (Rutkowski y col., 2014).

Ciertas infecciones tienen efectos protectores frente al desarrollo de alergia. Por ejemplo, aquellos microorganismos que favorecen respuestas mediadas por células Th1, como *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium tuberculosis* o *Toxoplasma gondii*, son fuertes inductores de IL-12 e INF $\gamma$ ;

citocinas que antagonizan con los efectos de IL-4 e IL-13, que son responsables del establecimiento de alergia (Simpson y col., 2009).

Las respuestas mediadas por células Th2 y anticuerpos IgE, evolucionó como un mecanismo de defensa en contra de los parásitos helmintos. A causa de la reducción en la frecuencia de helmintiasis, es probable que el sistema inmunológico no reciba la estimulación adecuada para modular este tipo de respuestas, haciéndose propenso a desarrollar reacciones de hipersensibilidad (Murphy y col., 2009).

No todas las infecciones disminuyen el riesgo de desarrollar alergia. Por ejemplo, la infección con el virus respiratorio sincitial durante etapas tempranas de la vida, favorece el establecimiento de respuestas mediadas por linfocitos Th2 e IgE, estimulando la proliferación de células de la respuesta linfoides innata productoras de IL-4, como las células NKT, al tiempo que suprime la diferenciación de linfocitos NK, que son la principal fuente de INF $\gamma$ , con la finalidad de evitar su acción citotóxica (Wingender y col., 2011).

**Hipótesis de la dieta.** Esta hipótesis sostiene que, los cambios en los patrones de alimentación asociados con la occidentalización, originan un desbalance en la incorporación y disponibilidad de factores moduladores de la respuesta inmunológica, aumentando la susceptibilidad a desarrollar y mantener procesos inflamatorios, así como una menor capacidad para desarrollar de tolerancia inmunológica (Linneberg, 2008; Patterson y col., 2012; Rutkowski y col., 2014).

En años recientes, se ha observado que tres factores se asocian de forma consistente con la alta prevalencia de trastornos alérgicos: la occidentalización, la urbanización y la afluencia (migración de áreas rurales a áreas urbanas). Es casi una ley de la naturaleza que, en una población que adopta un estilo de vida occidentalizado, incrementa la prevalencia de

sensibilización contra aeroalergenos y de padecimientos alérgicos (Linneberg, 2011).

Ejemplo de esto es lo que Krause y colaboradores observaron en población nativa de Groenlandia, a finales del siglo XX. Al inicio del estudio, esta población, vivía bajo un estilo de vida tradicional, dedicándose casi exclusivamente a la caza y a la pesca. En ese momento la prevalencia de sensibilización contra aeroalergenos se mantenía baja (aproximadamente 10%). Transcurrida una década, los investigadores vuelven a examinar la población, encontrando que la prevalencia de sensibilización se duplicó (19%), respecto a la primera evaluación. Los investigadores informaron que, conforme esta población adoptó un estilo de vida occidentalizado, caracterizado por altos niveles de estrés y una alimentación basada en comidas rápidas, se incrementó la ocurrencia de enfermedades asociadas con la globalización, como lo son las alergias. También, ofrecieron una de las primeras observaciones respecto al surgimiento de hipersensibilidad mediada por IgE en edades avanzadas de la vida, indicando que, la patogénesis de la alergia no solo ocurre en edades tempranas (Krause y col., 2002).

### **Cambios Nutricionales y Alergia**

La occidentalización, dio inicio a una serie de transformaciones socioculturales y conductuales en el ser humano, que lo hacen más propenso a desarrollar enfermedades crónicas (Patterson y col., 2012). Uno de los rubros con las modificaciones más evidentes es la alimentación, en gran parte debido a la gran demanda y al fácil acceso a los productos alimenticios que no formaban parte de nuestra dieta hace un siglo, así como por el ritmo de vida tan acelerado característico de la sociedad actual (Zubeldía y col. 2012).

En los últimos años, la adopción de patrones de alimentación occidentalizados ha dado lugar al auge de los alimentos procesados, las comidas rápidas y las frituras, que conforman gran parte de la dieta actual del ser humano (Sears y Ricordi, 2011). Los cambios dramáticos en la composición de la dieta humana, han convertido nuestra alimentación diaria en un peligro constante, y en una causa continua de estrés sistémico, a causa del consumo de antinutrientes y sustancias tóxicas que pueden favorecer el desarrollo de trastornos inflamatorios (Bosma-den Boer y col., 2012).

A mediados del siglo XX, se produjo la disminución en el consumo de grasas animales, como la mantequilla y la manteca de cerdo, en sustitución por la margarina y los aceites de origen vegetal (Sears y Ricordi, 2011). Estos nuevos productos, ricos en LA, fueron vinculados con un aumento en la prevalencia de enfermedades alérgicas en países desarrollados como Estados Unidos e Inglaterra (Rutkowski y col., 2014). Estas observaciones, llevaron a la formulación de una nueva hipótesis, conocida como hipótesis de los ácidos grasos, la cual postula que: “la composición lipídica de la dieta afecta el balance sistémico de los ácidos grasos y de varios de sus metabolitos, así como la interacción de los mismos con las células del sistema inmunológico, influyendo en su función durante los procesos inflamatorios, y favoreciendo el establecimiento de enfermedades alérgicas” (Black y Sharpe. 1997).

Para una mejor comprensión del papel de los ácidos grasos n-6 y n-3 en la patogénesis de las enfermedades alérgicas y su posible impacto en la “epidemia de alergia”, a continuación se abordarán aquellos aspectos relevantes de la bioquímica y metabolismo de ácidos grasos.

## **Generalidades de los Ácidos Grasos**

Los ácidos grasos son un grupo moléculas orgánicas cuya estructura está formada por una cadena hidrocarbonada de longitud variable, con un grupo carboxilo terminal (Patterson y col., 2012; Yates y col., 2014). Generalmente el esqueleto carbonado de los ácidos grasos está compuesto por un número par de átomos carbono (Yates y col., 2014), siendo los más comunes aquéllos con 12 a 22 carbonos (Rueda-Parra 2004).

Además de variar en longitud, la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos puede contener una o más insaturaciones (dobles enlaces carbono-carbono). Esta característica permite clasificarlos en 2 grandes grupos: saturados (sin insaturaciones) e insaturados (con al menos 1 insaturación). Estos últimos, a su vez, pueden subdividirse tomando en cuenta el número de insaturaciones presentes: monoinsaturados (solo 1 insaturación) y poliinsaturados (2 o más insaturaciones) (Kaur y col., 2014). A continuación se describen las principales características químicas de las diferentes categorías de ácidos grasos.

### **Ácidos Grasos Saturados**

Los ácidos grasos saturados son compuestos en los cuales los átomos de carbono, con excepción del carbono carboxilo, presentan una hibridación  $sp^3$ , lo que implica que todos ellos están unidos a 4 átomos mediante enlaces sencillos. Dada su similitud estructural con los alcanos correspondientes, estos, presentan propiedades físicas y propiedades químicas similares a éstos, con la única excepción de la acidez proporcionada por el grupo carboxilo y un mayor punto de fusión.

Estos ácidos grasos, son más estables, químicamente hablando, y tienen un tiempo de vida media mayor que los ácidos grasos insaturados. Los

principales representantes de esta categoría, son: el ácido palmítico (16:0) y el ácido esteárico (18:0), cuya distribución es ubicua en los sistemas biológicos (Mimal-Ratnayake y Galli, 2009).

### **Ácidos Grasos Insaturados**

Un ácido graso insaturado es aquél que presenta uno o más enlaces dobles carbono-carbono en su estructura. Los átomos de carbono que forman el doble enlace presentan una hibridación  $sp^2$  y están unidos únicamente a 3 átomos adyacentes. Estos ácidos grasos muestran mayor reactividad química que los ácidos grasos saturados, y sus propiedades físicas son similares a las de los hidrocarburos equivalentes: alquenos o alquinos. A mayor grado de insaturación, mayor será la reactividad del ácido graso, y menor su tiempo de vida media, dado que aumenta su sensibilidad al calor, a la radiación electromagnética y a sustancias químicas (Mimal-Ratnayake y Galli, 2009).

Las insaturaciones pueden adoptar 2 configuraciones geométricas distintas: configuración “cis” (Z) o configuración “trans” (E) (Orzavova y col., 2015). La configuración Z es la más ampliamente distribuida en la naturaleza, y ocurre cuando ambos hidrógenos están ubicados al mismo lado del plano axial del doble enlace. Las insaturaciones en configuración E son aquellas en las que los hidrógenos se encuentran en lados opuestos del plano axial. La configuración E es poco común en ácidos grasos de origen natural, su fuente habitual es el material lipídico que ha sido sometido a procesos industriales de hidrogenación y calentamiento prolongado (Kaur y col. 2014).

**Ácidos grasos monoinsaturados.** Contienen una sola insaturación, misma que se ubica con mayor frecuencia entre los carbonos 9 y 10, contando desde el carbono carboxilo, aunque también puede localizarse entre los carbonos 11 y 12. La longitud de su cadena oscila de 16 y 20 átomos de carbono. El ácido graso monoinsaturado con mayor distribución en la naturaleza

es el ácido oleico (18:1 n-9), presente de forma ubicua, seguido del ácido palmitoleico (16:1 n-7) y el ácido vaccénico (18:1 n-7), todos ellos con configuración geométrica cis (Mimal-Ratnayake y Galli, 2009).

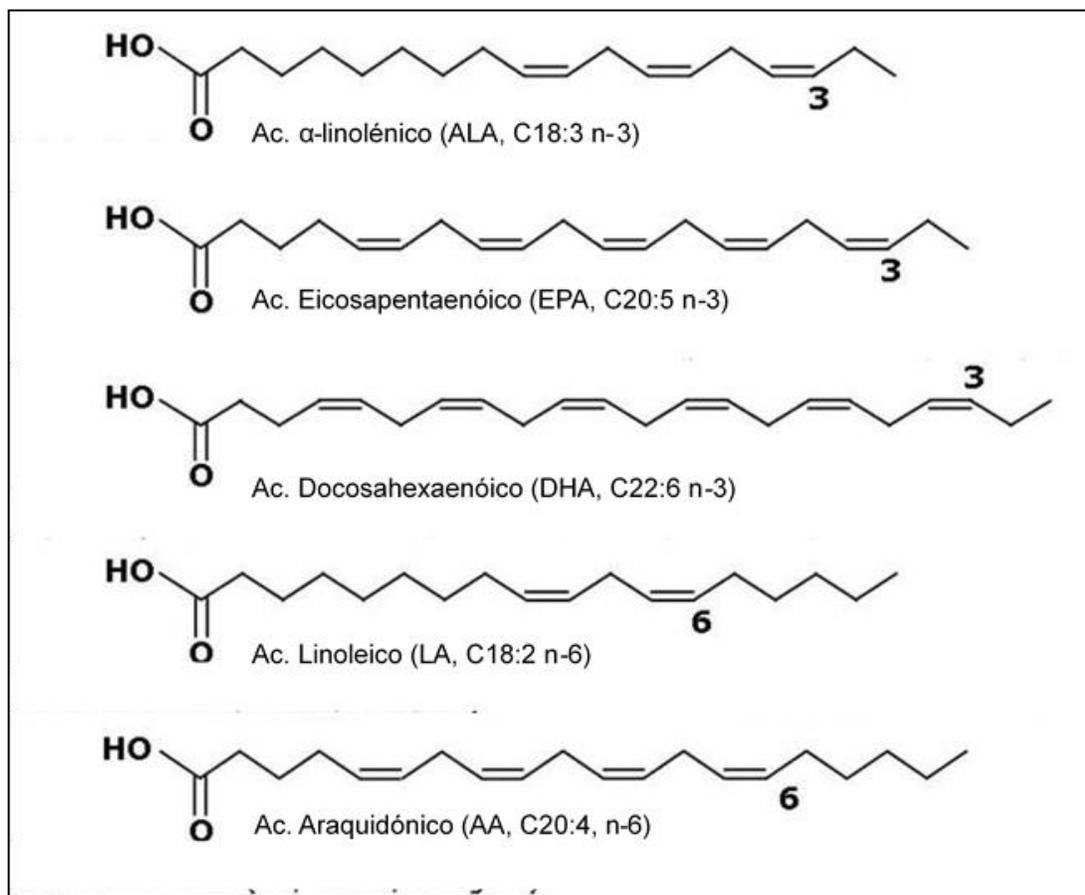
**Ácidos grasos poliinsaturados.** Son aquellos que poseen una cadena hidrocarbonada compuesta por 18 o más átomos de carbonos y con al menos 2 enlaces dobles separados por un grupo metileno (-CH<sub>2</sub>) (Yates y col. 2014). Dado su alto grado de insaturación, los ácidos grasos poliinsaturados son los más reactivos y menos estables de entre todos los ácidos grasos (Mimal-Ratnayake y Galli, 2009), y al mismo tiempo, son los ácidos grasos con la mayor gama de actividades biológicas y destinos metabólicos (Patterson y col., 2012). Los miembros representativos más comunes y sencillos de este grupo, son: el ácido linoleico (LA, 18:2 n-6) y el ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA, 18:3 n-3), provenientes de aceites vegetales y frutos secos, respectivamente (Patterson y col., 2012). En la Tabla I se muestran los nombres y notación corta de los ácidos grasos poliinsaturados n-6 y n-3 con mayor relevancia biológica, y su estructura se muestra en la Figura 5.

### **Metabolismo General de Ácidos Grasos Poliinsaturados**

La mayor parte de los ácidos grasos poliinsaturados a los cuales nuestro organismo tiene acceso, provienen de fuentes alimentarias. En su mayoría, ingresan al cuerpo humano esterificados en moléculas de triacilgliceroles, generalmente en la posición sn2; no obstante, también pueden hacerlo en moléculas de fosfolípidos (con la misma regioselectividad) o como ácidos grasos libres, aunque en menor medida. Para que los ácidos grasos presentes

**Tabla I.** Ácidos grasos n-3 y n-6 con mayor relevancia en sistemas biológicos.

Ácido	Nombre Común	Abreviatura	Notación corta
<b>Serie Omega 6</b>			
$\Delta^{9, 12}$ -octadecadienóico	Ácido linoleico	LA	18:2 n-6
$\Delta^{6, 9, 12}$ -octadecatrienóico	Ácido gamma-linolénico	GLA	18:3 n-6
$\Delta^{8, 11, 14}$ -eicosatrienóico	Ácido dihomo-gamma-linolénico	DGLA	20:3 n-6
$\Delta^{5, 8, 11, 14}$ -eicosatetraenóico	Ácido araquidónico	AA	20:4 n-6
<b>Serie Omega 3</b>			
$\Delta^{9, 12, 15}$ -octadecatrienóico	Ácido alfa-linolénico	ALA	18:3 n-3
$\Delta^{5, 8, 11, 14, 17}$ -eicosapentaenóico	Ácido eicosapentaenóico	EPA	20:5 n-3
$\Delta^{4, 7, 10, 13, 16, 19}$ -eicosahexaenóico	Ácido docosahexaenóico	DHA	22:6 n-3



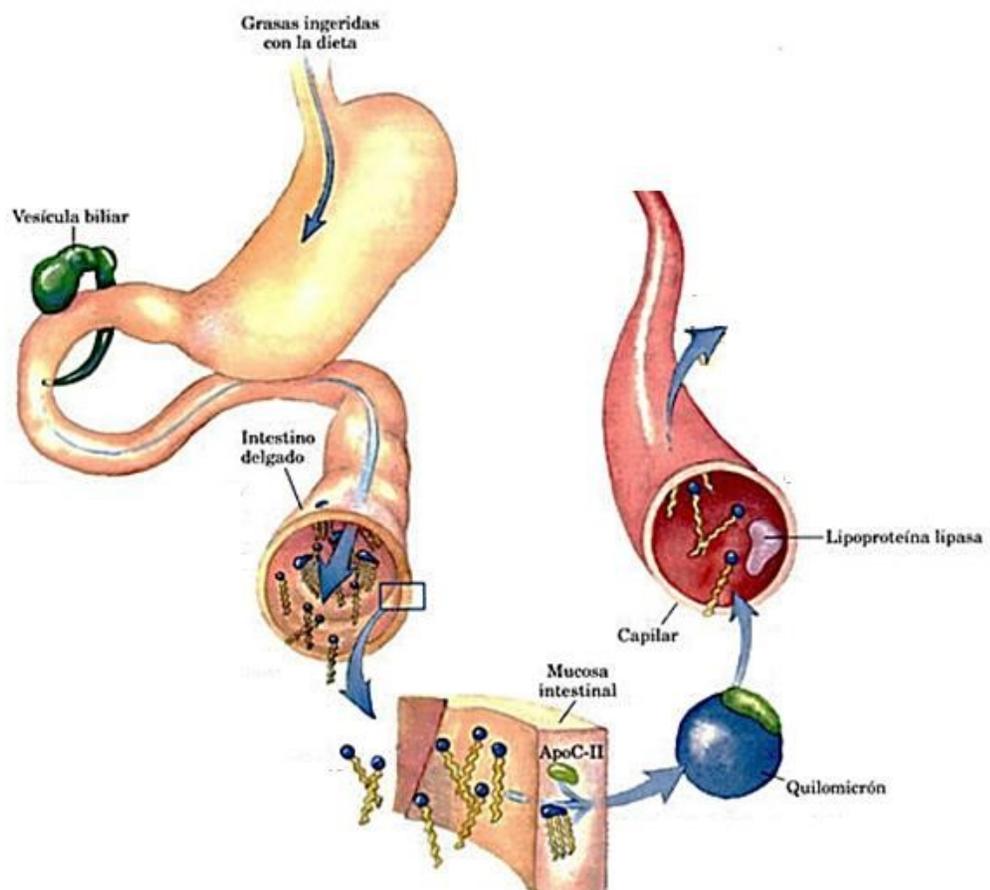
**Figura 5.** Estructura de los ácidos grasos n-6 y n-3 con mayor relevancia metabólica.

en los triacilgliceroles sean absorbidos, es necesario hidrolizar los enlaces éster que los mantienen unidos a la molécula portadora, debido a que ésta no puede ser absorbida de forma directa por las células intestinales a causa de su gran tamaño e hidrofobicidad (Lenhinger, 2008). El metabolismo general de ácidos grasos se compone de 3 fases principales: digestión, absorción y distribución (Figura 6).

### **Digestión**

Primeramente, el producto alimenticio es masticado y mezclado con saliva, para facilitar su tránsito esofágico. Una vez que el bolo alimenticio llega al estómago, inicia la digestión mediada por las lipasas gástricas, las cuales hidrolizan principalmente los ácidos grasos ubicados en la posición sn3 de la molécula de triacilglicerol que, en la mayoría de los casos, corresponden a ácidos grasos de cadena corta o cadena media (de 12 carbonos o menos). Estos ácidos grasos, una vez liberados, ingresan directamente al torrente sanguíneo por difusión simple, se asocian con albúmina y son oxidados principalmente por las células del endotelio vascular (Mimal-Ratnayake y Galli, 2009).

Luego de su estadía en el estómago, el bolo alimenticio parcialmente digerido es transportado al intestino delgado donde es mezclado con secreción pancreática, formada por sales biliares, lecitina y enzimas digestivas, entre otros componentes. La función principal de esta secreción es emulsionar la grasa alimenticia para facilitar su permanencia en el medio acuoso intestinal y, además, para la atracción y activación de la lipasa pancreática; enzima que requiere ubicarse en una interface agua-aceite para efectuar su actividad enzimática (Mathews y col., 2002).



**Figura 6.** Digestión, absorción y distribución de ácidos grasos.

Tomado de: Lenhinger, 2008.

Esta enzima hidroliza los enlaces éster de la posición sn1 y/o sn3 de la molécula de triacilglicerol, posiciones ocupadas principalmente por ácidos grasos saturados. Los productos finales del proceso de hidrólisis mediada por la lipasa pancreática son: ácidos grasos libres (casi en su totalidad ácidos grasos saturados) y 2-monoacilgliceroles formados por glicerol y una molécula de ácido graso esterificada en la posición sn2 que, en la mayor parte de los casos, es un ácido graso poliinsaturado (Mimal-Ratnayake y Galli, 2009).

### **Absorción**

Los ácidos grasos con 12 carbonos o menos, son absorbidos rápidamente por la pared intestinal, unidos a albúmina y transportados al hígado, mediante la circulación portal, donde son rápidamente oxidados. Mientras tanto, los ácidos grasos con 14 carbonos o más y los 2 monoacilgliceroles, que no pueden difundirse a través de las membranas celulares, permanecen asociados a las biliaries y lecitina. Estas partículas entran en contacto con las microvellosidades de la mucosa intestinal y su contenido lipídico difunde al interior de las células epiteliales mediante transporte pasivo (Lehninger, 2008).

El proceso de absorción de ácidos grasos en el ser humano tiene una eficiencia del 95% (Mimal-Ratnayake y Galli, 2009).

### **Distribución**

En el interior de las enterocitos, los ácidos grasos producto de digestión del material lipídico alimenticio, son movilizados al retículo endoplásmico mediante su asociación con proteínas de unión a ácidos grasos donde son activados por la unión a coenzima A (CoA) y, posteriormente utilizados para la formación de moléculas de triacilgliceroles, fosfolípidos o ésteres de colesterol. Estas moléculas portadoras de ácidos grasos recién sintetizadas son empleadas para

la formación de partículas llamadas quilomicrones, que se forman en el aparato de Golgi y son expulsados de la célula por exocitosis; luego de lo cual ingresan a la circulación linfática y son dirigidas al torrente sanguíneo (Mathews y col., 2002).

En el torrente sanguíneo, los triacilgliceroles contenidos en los quilomicrones son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos libres por la enzima lipoproteína lipasa asociada a la superficie del endotelio vascular. El glicerol y los ácidos grasos libres pueden traspasar la pared de los vasos capilares e ingresar a los tejidos, sea como fuente de energía o para ser almacenados en el tejido adiposo. Aquellos ácidos grasos que no salen de circulación, se unen a albúmina y son metabolizados por el hígado (Kaur y col., 2014).

### **Metabolismo Celular de Ácidos Grasos Poliinsaturados**

La mayor parte de las vías que comprenden el metabolismo de lípidos toman lugar en unos orgánulos especializados denominados adiposomas o cuerpos lipídicos, mismos que desempeñan un papel importante en la señalización celular, la regulación del metabolismo de ácidos grasos y el control de la síntesis y secreción de mediadores inflamatorios, como los eicosanoides (Orzavova y col., 2015). Los adiposomas se originan a partir de la membrana del retículo endoplásmico o el aparato de Golgi y están formados por una gota de material lipídico rodeada de una monocapa de fosfolípidos (Lenhinger, 2008). La formación de estos orgánulos es estimulada en presencia de ácidos grasos con múltiples insaturaciones en configuración Z, lo cual sugiere que los ácidos grasos poliinsaturados pueden ser agonistas del metabolismo lipídico, dado su alto grado de insaturación (Orzavova y col., 2015).

Los ácidos grasos poliinsaturados pueden ser desviados a diversos destinos metabólicos, entre los que destacan: 1) la  $\beta$ -oxidación, 2) el almacenamiento por esterificación, 3) la cascada de desaturación/ elongación

(Kaur y col., 2014) y 4) la síntesis de mediadores lipídicos, en la vía de las ciclooxigenasas (COX) y lipooxigenasas (LOX) (Wall y col., 2010; Yates y col., 2014).

### **β-Oxidación de AG Poliinsaturados**

La grasa, almacenada en forma de triacilgliceroles, es la fuente de energía más eficiente del organismo humano, pues involucra la oxidación tanto del glicerol como de los ácidos grasos que conforman las moléculas. En la β-oxidación, las moléculas de ácidos grasos son transportadas al interior de la mitocondria mediante su asociación con L-carnitina. Una vez que las molécula de ácidos grasos ingresan a la matriz mitocondrial son fragmentadas, formando acetil-CoA, la cual se desvía al ciclo de Krebs para producir gran cantidad de energía (Lenhinger, 2008).

Esta vía metabólica muestra alta selectividad por sustratos de 18 carbonos o menos, mismos que metaboliza casi exclusivamente, debido a su mayor rapidez de oxidación: 14:0>16:0>18:0>>20:0 (Mimal-Ratnayake y Galli, 2009). Los ácidos grasos de cadena larga (con 20 o más carbonos), son oxidados principalmente en los peroxisomas, en un proceso que no está enlazado con la respiración celular, por lo cual la oxidación de estos ácidos grasos no genera energía en forma de ATP (trifosfato de adenosina), sino que genera calor. Este proceso de β-oxidación peroxisomal es sumamente ineficiente y lento, por lo cual los ácidos grasos de cadena larga suelen acumularse en los lípidos celulares (Mathews y col., 2002).

Así mismo, el grado de insaturación, es un factor que puede alterar la velocidad de oxidación de los ácidos grasos; de tal modo que los ácidos grasos más insaturados se oxidan más rápido que aquellos con el mismo número de carbonos, pero menor número de insaturaciones: 18:3>18:2>18:1>18:0 (Mimal-Ratnayake y Galli, 2009).

En la mayoría de las células, la  $\beta$ -oxidación es regulada principalmente por la disponibilidad de los sustratos necesarios para su funcionamiento, es decir, por la disponibilidad de ácidos grasos. En los animales (incluido el ser humano), esta disponibilidad se contrala a su vez mediante la acción hormonal que da lugar a la movilización de las grasas desde las reservas en tejido adiposo. El glucagón y la adrenalina, son las principales hormonas impulsoras de la movilización de ácidos grasos, puesto que, su principal acción sobre los adipocitos es la activación de la TAG-lipasa presente en las gotas lipídicas, cuya consecuencia es la degradación de los triacilgliceroles contenidos en la gota lipídica y la posterior liberación de ácidos grasos al torrente sanguíneo (Mathews y col., 2002).

### **Biosíntesis de Ácidos Grasos Poliinsaturados de Cadena Larga**

El cuerpo humano es capaz de generar todos los ácidos grasos necesarios para su correcto funcionamiento, con la excepción de dos: el LA y ALA (Patterson y col., 2012). Dado que no pueden ser sintetizados de forma endógena y su única fuente de exposición son los alimentos, LA y ALA, son considerados ácidos grasos esenciales (Chilton y col., 2014; Orzavova y col., 2015). Ambos, son los miembros con la estructura más sencilla y los precursores metabólicos de su respectiva familia. Los n-6 pueden ser sintetizados a partir de LA, cuya origen alimentario son los aceites vegetales como el de soya, maíz o cártamo, los cereales, los granos enteros y la grasa de origen animal. De forma análoga, ALA sirve como materia prima para la producción de los demás ácidos grasos n-3. Éste ácido graso puede ser obtenido a partir de la ingesta vegetales de hojas verdes y semillas de linaza o canola (Patterson y col., 2012).

El proceso de transformación de LA y ALA en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, también conocidos como ácidos grasos altamente insaturados (ácidos grasos con 20 carbonos o más, y al menos 3

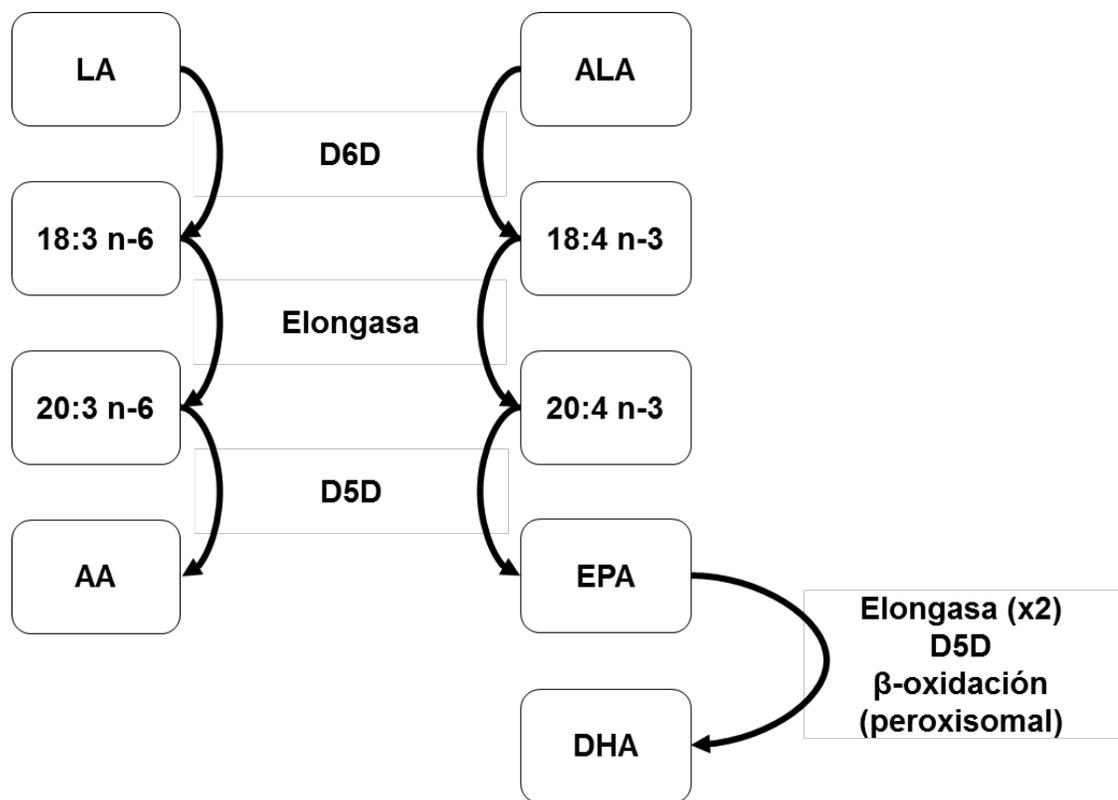
insaturaciones en su estructura) (Flock y col. 2013), recibe el nombre de cascada de desaturación/elongación (Figura 7). El principal sitio anatómico en el que este proceso toma lugar son los microsomas hepáticos; no obstante, también ocurre, aunque en menor medida, en el cerebro, el corazón, los pulmones y la piel (Patterson y col., 2012).

A continuación se presenta una descripción breve de las reacciones enzimáticas que conforman la cascada de desaturación/elongación.

**Primera desaturación.** La enzima delta-6-desaturasa (D6D), que se ubica en el retículo endoplásmico liso, es la encargada de llevar a cabo esta reacción. Su acción consiste en generar un enlace doble entre los carbonos 6 y 7 de la molécula de ácido graso esencial, mediante la sustracción de un ion hidruro y un protón, los cuales son aceptados por el cofactor NAD<sup>+</sup>. Esta reacción es importante puesto que determina la velocidad global de la cascada de desaturación/elongación (Lenhinger, 2008).

Mediante esta reacción, LA es convertido en ácido gamma-linolénico (GLA, 18:3 n-6), mientras que el ALA se transforma en ácido estearidónico (AE, 18:4 n-3) (Chilton y col., 2015). Durante la evolución de nuestra especie, la D6D, se adaptó para metabolizar de forma preferente al ALA, puesto que era el principal sustrato biodisponible para la reacción (Orzavova y col., 2015). No obstante, gracias a la dieta moderna occidentalizada, el principal sustrato disponible para esta enzima es el LA, cuya ingesta suele ser 10 a 30 veces superior al de ALA (Sears, 2010).

Un aspecto importante de esta primera reacción es su regulación en condiciones fisiológicas, la cual depende de la concentración sérica de la hormona insulina. Cuando la insulinemia es alta, por ejemplo, luego de haber ingerido alimentos con alto índice glicémico, la actividad de esta enzima aumenta;



**Figura 7.** Cascada de desaturación/ elongación.

Cuando la insulinemia es alta, por ejemplo, luego de haber ingerido alimentos con alto índice glicémico, la actividad de esta enzima aumenta; pero disminuye cuando la concentración de insulina en sangre baja, por ejemplo, en periodos de ayuno (Wall y col., 2010). Otros factores pueden alterar la actividad de esta enzima, por ejemplo: el magnesio, la vitamina C, B3 y B6, estimulan su actividad; mientras que la edad avanzada, la exposición prolongada al humo de tabaco, la ingesta de ácidos grasos *trans*, y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (EPA, DHA y AA), la baja ingesta proteica y el consumo de alcohol, pueden afectar su funcionamiento, impidiendo la conversión de ácidos grasos esenciales en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (Gogus y Smith., 2010).

**Elongación.** La segunda reacción de la cascada de desaturación/elongación, involucra el incremento del número de carbonos en la molécula de ácido graso, mediante la adición de 2 carbonos en el extremo carboxilo. Esta reacción puede ser catalizada por una de dos enzimas elongasa de ácido graso de cadena muy larga (ELOVL, por sus siglas en inglés), ELOVL 2 o ELOVL 5, codificadas en el genoma humano (Chilton y col. 2014).

El mecanismo mediante el cual estas enzimas aumentan el número de carbonos en las moléculas de AG es muy similar al mecanismo de la FAS (ácido graso sintasa), empleando ambas enzimas al mismo donador de carbono, malonil-CoA, y NADH como agente reductor (Lenhinger, 2008). Ambas enzimas exhiben afinidad 3 a 4 veces superior por sustratos pertenecientes a la familia n-3 que por los n-6 (Wall y col., 2010), a causa del contexto alimenticio en el cual evolucionó nuestra especie, y por adición, esta vía metabólica, con un consumo balanceado de ácidos grasos poliinsaturados (Chilton y col., 2014; Orzavova y col., 2015).

La actividad de las elongasas depende, sobre todo, de la disponibilidad de sustratos, entre los que destacan el ácido gama-linolénico (GLA, 18:3 n-6) y

el ácido estearidónico (AE, 18:4 n-3), sintetizados por la D6D a partir de LA y ALA, respectivamente (Gogus y Smith, 2010).

**Segunda desaturación.** Esta reacción es catalizada por la enzima delta-5-desaturasa (D5D), la cual introduce una nueva insaturación entre los carbonos 5 y 6, contando desde el carbono carboxilo. A través de esta vía, se genera EPA y AA, a partir de ALA y LA, respectivamente (Wall y col., 2010; Kaur y col., 2014). Sin embargo, numerosos estudios indican que el rendimiento de la conversión de AGE en AGAI es muy bajo, siendo menor al 10% de los EFA ingeridos (Hussein y col., 2005; Gillingham y col., 2013; Flock y col., 2013).

### **Formación de mediadores lipídicos**

La biosíntesis de mediadores lipídicos derivados de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos (DGLA, AA y EPA) ocurre cuando la célula es activada por una lesión celular, citocinas, factores de crecimiento u otros estímulos (Kaur y col., 2014). Estos provocan la activación de la enzima fosfolipasa A2 a nivel de la membrana plasmática, la cual hidroliza el enlace éster del ácido graso ubicado en la posición sn2 de una molécula de lecitina o fosfatidil-inositol (Wall y col., 2010).

La reacción de liberación de precursores para la síntesis de mediadores lipídicos, mediada por la fosfolipasa A2, no discrimina entre ácidos grasos n-6 y n-3. Por tal motivo, la cantidad de precursores que es liberada durante este paso, depende únicamente de su disponibilidad (Lands, 2015). No obstante, la hidrólisis de los fosfolípidos parece ser la reacción limitante de la vía biosintética de mediadores lipídicos, y por ende, la más regulada en la formación de eicosanoides (Kaur y col., 2014).

Los ácidos grasos libres, generados por la anterior reacción, están disponibles para ser transformados en eicosanoides, mediante una gran

variedad de vías metabólicas. Las principales vías de síntesis de eicosanoides son la vía de las ciclooxigenasas (COX) y la vía de la 5-lipooxigenasa (LOX-5) (Brok y Peters-Golden, 2007). Estas enzimas se localizan en el retículo endoplásmico liso, y son encargadas de iniciar la biosíntesis de prostaglandinas y leucotrienos, respectivamente (Groeger y col., 2010; Ricciotti y col., 2011).

Estos mensajeros químicos son mediadores importantes de la respuesta inflamatoria, ya sea frente a agentes infecciosos, o en las reacciones alérgicas (van den Elsen y col., 2013). Por ende, sus rutas biosintéticas, se ven activadas por estímulos proinflamatorios, como por ejemplo: la exposición a endotoxinas bacterianas, citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa, patrones moleculares asociados a daño, y el reconocimiento de alérgenos (Dennis y Norris, 2015). Adicionalmente, la ingesta excesiva de LA y su acumulación en los depósitos celulares, es un estímulo capaz de iniciar la síntesis de estos mediadores lipídicos (Bosma-der Boer y col., 2012).

### **Ácidos Grasos Poliinsaturados en la Patogénesis de Alergia**

Los n-6, en especial AA, son considerados promotores de inflamación alérgica. La evidencia sugiere que el AA participa en la amplificación de las respuestas alérgicas, regulando a la baja la expresión de moléculas del MCH de tipo II, moléculas co-estimuladoras como el CD80 y CD86, y citocinas como IL-12 y factor de necrosis tumoral alfa en células dendríticas, al mismo tiempo que aumenta la expresión de IL-10, inhibiendo su actividad como célula presentadora de antígenos, en forma dependiente de cinasas MAPK (Zeyda y col., 2005), inhibiendo selectivamente la diferenciación de células Th1, sin afectar su capacidad de inducir diferenciación de células Th2 (Kong y col., 2010).

Sus derivados eicosanoides generados por la actividad enzimática de la COX-2 y la 5-LOX, también favorecen la inflamación alérgica. La PGE2 coopera

con la amplificación de la producción de IgE, de manera independiente de IL-4 (Weise y col., 2011). El ácido 5-oxo-6, 8, 11, 14-eicosatetraenoico (5-oxo-EETE), producido por linfocitos B expuestos a estrés oxidativo, actúa como un potente quimioatractor para eosinófilos, neutrófilos y monocitos (Grant y col., 2011). El leucotrieno (LT) D4 induce bronco-constricción y aumenta la producción de IgE por los linfocitos B. La PGD2 inhibe la producción de IFN $\gamma$  por células NK y la apoptosis de células Th2, participa en la activación de eosinófilos y linfocitos Th2 mediante el receptor CD294 e incrementa la expresión de citocinas de clase 2 (Villanueva Pájaro y col., 2014).

Sin embargo, no todos los derivados de AA son promotores de la inflamación alérgica. 15-deoxi- $\Delta$ 12, 14-PGJ2, inhibe la quimiotaxis de eosinófilos, la eosinopoyesis y la proliferación de células B. También disminuye la expresión de COX-2, la producción de eicosanoides proinflamatorios y de citocinas de clase 2, inhibiendo la fosforilación del factor nuclear  $\kappa$  B.

No obstante, la disminución en la expresión de la COX-2, puede convertirse en un arma de doble filo. Por un lado contribuye al mejoramiento del estado atópico, al disminuir la síntesis de PGD2 y LTC4; pero, también contribuye a evitar la síntesis de resolvinas, protectinas y maresinas, derivadas de los ácidos grasos n-3, al inhibir la activación de la enzima LOX-15, dependiente de PGE2. El efecto global de esto, es un retraso en el proceso de resolución de la inflamación, lo cual promueve el curso a un estadio crónico (Farnesi de Assuncao y col., 2012).

Por su parte, los ácidos grasos n-3, como ALA, EPA y DHA, exhiben efectos antagónicos a los mostrados por los n-6. Por sí mismos, son capaces de incrementar la fluidez de las cadenas acilo en la bicapa lipídica, alterando estructural y funcionalmente las balsas lipídicas y otros subdominios de la membrana plasmática. Esto afecta el grado de elasticidad, permeabilidad iónica

y de fusión de las membranas de leucocitos, dificultando su activación, movilización y degranulación (Basiouni y col., 2012).

EPA y DHA, pueden reducir la síntesis e incorporación de AA en los fosfolípidos de membrana, mediante competencia directa por el sitio activo de las enzimas involucradas en la formación de ácido fosfatídico. Una vez incluidos en el pool de ácidos grasos de la membrana plasmática, son capaces de afectar la capacidad fagocítica y de presentación de antígenos (Villanueva-Pájaro y col., 2014).

Su inclusión en la membrana, supone una reducción en la transcripción de IL-13, la cual es dependiente de radicales libres de oxígeno, como el superóxido. La capacidad inhibitoria de los ácidos grasos n-3, sobre la expresión de esta citocina, se debe a su capacidad de inducir la expresión de genes antioxidantes (MacLean y col., 2013).

EPA es un inhibidor competitivo de las enzimas COX-2 y LOX-5, resultando en la generación de mediadores menos activos que los derivados de AA. En macrófagos alveolares de personas alérgicas disminuye la producción de LTD4, clave para inducir la infiltración de eosinófilos y neutrófilos a los sitios de inflamación alérgica. DHA disminuye la liberación de AA de los fosfolípidos de membrana reduciendo la actividad de la fosfolipasa A2. También puede inhibir el cambio de isotipo a IgE en células B humanas, evitando la activación de la célula B mediante la estimulación del CD40 y del receptor de IL-4 (Villanueva-Pájaro y col., 2014). Por tal motivo, conocer la proporción tisular de ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6, puede ser de utilidad para conocer los mecanismos inmunológicos que operan durante el establecimiento y perpetuación del estado alérgico.

## **METODOLOGÍA**

### **Diseño Experimental**

El presente trabajo es un estudio transversal, analítico prospectivo, de casos y controles. El tipo de muestreo utilizado durante su realización fue no probabilístico por conveniencia. El mismo forma parte del “mega proyecto” titulado: “Estatus de Ácidos Grasos Omega-3 como Indicador Predictivo de la Severidad de la Inmunoreacción Alérgica de una Población Sensibilizada” (Anexo1), desarrollado por el grupo de investigación “Biomedicina, Química y Nutrición”; el cual cuenta con la aprobación del H. comité Institucional de Bioética de la UNISON (Anexo 2) La sección correspondiente al presente trabajo de tesis se realizó durante el desarrollo del megaproyecto y finalizó en noviembre del 2016.

### **Población de Estudio**

Los participantes incluidos en el estudio fueron adultos de ambos sexos, en un intervalo de edad comprendido entre 18 y 55 años. Todos ellos reportan ser residentes de la ciudad de Hermosillo, Sonora.

### **Reclutamiento de voluntarios**

Los sujetos de estudio fueron invitados a participar por contacto directo entre ellos y el responsable o colaboradores del proyecto. Se programaron reuniones en donde se dio a conocer el protocolo del proyecto y los beneficios que obtendrán al participar del estudio. Acto seguido, se les invitó a participar de forma voluntaria en el trabajo de investigación proporcionándoles una carta de “consentimiento Informado” (Anexo 3) en el cual hicieron constar que tenían conocimiento pleno de los objetivos del proyecto, así como de los

procedimientos de los que serían partícipes durante el desarrollo del mismo. En conjunto con la carta de “Consentimiento Informado”, se les proporcionó un cuestionario para la recopilación de datos sociodemográfico relevantes (Anexo 4)

Posteriormente, les fue asignado un día para asistir a toma de muestra sanguínea; mismo día en el cual deberían entregar tres muestras de heces fecales recolectadas en diferentes evacuaciones, para la realización de un coproparasitoscópico seriado. Tanto la extracción de muestras sanguíneas como la recolección de muestras de heces fecales, fueron llevadas a cabo en las instalaciones del “Laboratorio de Análisis Clínicos Acuña”, cuyo director es integrante del grupo de investigación y del comité sinodal.

### **Criterios de Inclusión**

#### **Individuos Sensibilizados**

- Antecedentes personales de alergia (población adulta).
- Phadiatop® positivo.

#### **Individuos No Sensibilizados**

- Sin antecedentes personales de alergia (población adulta).
- Phadiatop® negativo.

### **Criterios de Exclusión**

- Consumo de suplementos alimenticios que contengan ácidos grasos n-6 u n-3 o cualquier otro de composición no identificada.
- Hábito de fumar.
- Consumo regular de alcohol.

- Hiperglicemia o diabetes.
- Helmintiasis o infección reciente.
- Terapia con antiinflamatorios.

### **Criterios de Eliminación**

- No firmar el consentimiento informado.
- Información clínica y de laboratorio incompleta y/o inconsistente.

### **Toma y Procesamiento de Muestras**

La extracción de la muestra sanguínea fue llevada a cabo por personal capacitado en punción venosa, los cuales utilizaron tubos la vacío del sistema BD Vacutainer® debidamente etiquetados con la clave de identificación asignada al participante y la fecha de extracción. Se extrajeron 20 mL de muestra repartidos en 4 tubos: 2 tubos sin aditivos (tapón rojo) a partir de los cuales se obtuvo suero para realizar la química sanguínea y el fluoroinmunoensayo Phadiatop®, y 2 con el anticoagulante EDTA (tapón lavanda), uno de los cuales se destinó para la realización de una citometría hemática con diferencial y el otro para la determinación del perfil de ácidos grasos por CG-FID.

### **Citometría Hemática**

Con la finalidad de evaluar el estado general de salud de los participantes se realizó una citometría hemática con diferencial. Para ello se empleó el contador semiautomático Cell-Dyn 1700®. Al momento de la extracción de la muestra, se realizaron extendidos de sangre periférica marcados con las iniciales del participante mediante un lápiz graso, los cuales fueron teñidos con el colorante Wright-Giemsa, procediendo como se indica a continuación:

- 1) A cada laminilla del extendido se le agregaron 6 gotas de colorante Wright-Giemsa.
- 2) Se dejó teñir por 4 minutos y medio.
- 3) Se agregó buffer a pH de 7.4
- 4) Se lavó la preparación con agua destilada.
- 5) Se secó al aire a temperatura ambiente.

Una vez secas las laminillas, se procedió al análisis de los extendidos bajo el microscopio a 40x por personal capacitado. Se reportó el conteo diferencial de leucocitos, así como las peculiaridades morfológicas de los diversos elementos formes presentes en la muestra.

### **Examen Coproparasitológico Seriado**

El estudio coproparasitológico se realizó con el fin de buscar parásitos con migración visceral que pueden afectar los resultados. Para ello, se utilizó la técnica de concentración por sedimentación Ritchie.

Con un aplicador de madera se tomaron aproximadamente 1 gr. de la materia fecal en un vaso de precipitado al cual se le añadieron 10 mL de solución salina para homogenizar la muestra. La suspensión se filtró a través de una gasa colocada en un embudo para recoger el filtrado en un tubo cónico. El tubo se centrifugó durante 2 minutos a 2000 rpm, se decantó el sobrenadante y el sedimento se resuspendió con la solución salina; se repitieron estos pasos hasta que el sobrenadante se aclarara. Al último sedimento se le agregó 5 mL de solución de formaldehído al 10%, se mezcló y dejó reposar durante 10 minutos. Transcurrido el tiempo, se le añadió 0.5 mL de éter, se tapó el tubo y agitó enérgicamente durante 30 segundos, para posteriormente centrifugarlo durante 2 minutos a 2000 rpm. Después de centrifugar se observan 4 capas:

éter en la superficial, un tapón de heces fecales, formaldehído, y el sedimento en el fondo del tubo. El sobrenadante se descartó y se introdujo una pipeta pasteur para tomar una gota del sedimento, la cual se colocó en un portaobjetos con una gota de lugol y el cubreobjetos. La preparación se observó en el microscopio con los objetivos 10x y 40x.

### **Obtención de Suero**

Las muestras sanguíneas contenidas en tubos sin aditivos se dejaron coagular a temperatura ambiente por una hora. Luego se centrifugaron a 2000 r.p.m. durante 10 minutos para permitir la sedimentación del coágulo. Finalmente, el suero fue aislado por aspiración utilizando una pipeta Pasteur y fue dividido en 2 alícuotas de entre 1 y 2 mL (según la proporción de suero de cada individuo), depositadas en crio-viales debidamente etiquetados.

Una de las alícuotas fue empleada para la realización del análisis bioquímico sanguíneo de 6 elementos, para lo que fueron utilizados Kits comerciales de la marca Randox. Este análisis incluyó la determinación de: glucosa, triacilgliceroles, colesterol total, urea, creatinina y ácido úrico.

La otra alícuota de suero, que se utilizó para la detección de sensibilización alérgica mediante el fluoroinmunoensayo enzimático Phadiatop® (que se describirá con detalle más adelante), fue almacenada a -20°C hasta el momento de ser procesada.

### **Obtención de Eritrocitos**

Se centrifugaron las muestras de sangre total a 2000 rpm por 10 minutos para estimular la sedimentación de los eritrocitos. Una vez realizado esto, se colectó el plasma con una pipeta y se colocó en un tubo nuevo debidamente etiquetado y se almacenó a -20 °C. Posteriormente, se colocó una alícuota de entre 1.5 y 2

mL de eritrocitos en un crio-vial con una capacidad de 2.5 mL. Las alícuotas se almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  en ultracongelación, hasta su procesamiento. A esta temperatura, las muestras son viables para su análisis por un periodo de hasta 16 años, según relata la bibliografía (Potalla y col., 2012).

### **Análisis de Ácidos Grasos**

El análisis del perfil de ácidos grasos en eritrocitos, es una herramienta que nos permite estimar la proporción de ácidos grasos n-6 y n-3 en los tejidos del organismo humano (Potalla y col., 2012). Esta metodología consta de 3 pasos fundamentales: 1) síntesis de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME, por sus siglas en inglés), 2) el análisis por CG-FID y 3) el cálculo de los parámetros relacionados con la proporción de ácidos grasos presentes en la muestra.

Por su naturaleza intrínseca, los ácidos grasos, son moléculas con baja volatilidad, debido a que sostienen interacciones mediadas por puentes de hidrógeno con moléculas adyacentes (Mimal Ratnayake y col., 2009). No obstante, el análisis de CG requiere que los analitos evaluados sean volátiles. Por tal motivo, es necesario aumentar la volatilidad de los ácidos grasos, para que puedan ser analizados por CG. La mejor manera de aumentar su volatilidad es evitando la formación de puentes de hidrógeno mediante la protección del grupo carboxilo formando un FAME (Petrovic y col., 2010).

A continuación, se describe la metodología utilizada para la determinación del perfil de ácidos grasos en el presente trabajo.

### **Preparación de Muestras y Tubos de Reacción**

Primeramente, las alícuotas de eritrocitos, que habían sido almacenadas a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ , fueron colocadas en un congelador convencional, que mantiene una temperatura aproximada de  $-20^{\circ}\text{C}$ , por un periodo de 2 horas.

Luego de esto, las muestras se colocaron en refrigeración, de 3 a 4°C, hasta que se descongelaron.

Este proceso, fue realizado para evitar que la muestra sufriera cambios bruscos en la temperatura, que pudieran alterar su estabilidad y provocar que su análisis arrojara resultados defectuosos. Esto se debe a que, los ácidos grasos poliinsaturados, son extremadamente sensibles a los cambios bruscos de temperatura y suelen degradarse con facilidad (Pottala y col., 2012).

Con base en lo anterior, previo al procesamiento de las muestras, se añadieron 2 mL de hexano frío (a una temperatura de 3 a 4°C) y el mismo volumen del complejo  $\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{OH}$  (Trifluoruro de boro metanólico) al 14% p/v, a la misma temperatura, en tubos de vidrio con tapón de rosca de 13x100 mm, limpios y secos. Los tubos de reacción se mantuvieron en refrigeración hasta el momento en que la muestra fue añadida, para evitar que el reactivo  $\text{BF}_3$  se descompusiera en ácido bórico.

### **Agente Donador de Grupo Metilo**

Se prepararon FAMEs utilizando una reacción de derivatización en medio ácido, utilizando el complejo trifluoruro de boro-metanol como donador de grupo metilo. Este reactivo fue seleccionado con base a las recomendaciones de la norma ISO 12966-2:2011 “Animal and vegetable fats and oils -- Gas chromatography of fatty acid methyl esters -- Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids” (Petrovic y col., 2010).

El complejo  $\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ , es idóneo para el presente estudio, porque reacciona únicamente con ácidos grasos esterificados, dejando sin derivatizar los ácidos grasos libres (Araujo y col., 2008). Es importante recordar que el objetivo de este trabajo es analizar los ácidos grasos presentes en los depósitos

celulares de los eritrocitos, conformados por los fosfolípidos de membrana y los triacilgliceroles almacenados en los cuerpos lipídicos (Orzavova y col., 2015).

### **Obtención de Ésteres Metílicos**

- 1) Se aspiraron 500  $\mu$ L de eritrocitos con una micropipeta, utilizando una técnica especial para pipeteo de muestras con alta viscosidad. Este método consistió en la aspiración lenta y controlada de la muestra, con la pipeta calibrada en 500  $\mu$ L, y vaciar la punta lentamente, en el contenedor de la muestra. Este procedimiento se repitió en al menos 3 ocasiones en cada muestra analizada, para equilibrar la temperatura entre la punta de la pipeta y la muestra, y evitar pérdida de muestra.
- 2) Luego de esto, se aspiró el volumen necesario para el análisis y se depositó en el tubo de reacción correspondiente debidamente identificado con la clave de la muestra.
- 3) Inmediatamente después de la adición de la muestra al tubo de reacción, se homogeneizó el contenido del tubo empleando un vortex a máxima velocidad por 30 segundos, hasta obtener una mezcla homogénea de color marrón oscuro.
- 4) Las muestras homogeneizadas se colocaron en un baño de agua a temperatura ambiente para aumentar su temperatura paulatinamente.
- 5) Una vez atemperados, los tubos de reacción se colocaron en un baño maría a 100°C por 15 minutos, para estimular la reacción de formación de FAMES.
- 6) Transcurrido el tiempo de reacción, se añadió agua a temperatura ambiente al baño maría para detener la reacción. El proceso se repitió hasta que el agua del baño alcanzó una temperatura de entre 37 y 40°C.
- 7) Posteriormente, se agregó a cada tubo de reacción 2 mL de agua destilada, y se mezcló en vortex por 30 segundos.

- 8) Los tubos de reacción fueron centrifugados a 3000 rpm por 3 minutos para permitir la separación de las fases. La fase orgánica, de menor densidad, contiene los FAME sintetizados durante la reacción.
- 9) Se extrajo la fase orgánica con una pipeta Pasteur y se colocó en crioviales, para su almacenamiento, a -20 °C, hasta su análisis por CG-FID.

Esta metodología fue establecida a partir de un método estandarizado por Pedro Araujo y colaboradores en 2008, la cual fue incluida dentro de los métodos aprobados por la AOAC para el análisis de ácidos grasos por CG. Adicionalmente, este método base, ha sido utilizado en una multitud de estudios a gran escala, por su reproducibilidad, sensibilidad y robustez (Potalla y col. 2012).

### **Análisis por CG-FID**

Una vez generados los FAME, las muestras fueron trasladadas al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), para ser analizadas. Las muestras fueron protegidas de la luz y el calor, colocándolas en una nevera conteniendo refrigerantes en gel a para conservar la temperatura de las mismas, durante el transporte.

El análisis cromatográfico fue realizado en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama de la marca Agilent Technology, modelo 6890N network GC System, con autoinyector (Figura 8). Se empleó una columna DB-23 de 60 mts con un diámetro interno de 0.25 mm y un recubrimiento de 0.25 µm, de la marca Agilent. La fase estacionaria de la columna está conformada por cianopropil-metilpolisiloxano, la cual fue diseñada para la separación de FAMEs. Como gas acarreador se utilizó helio.

Las condiciones de análisis fueron establecidas previamente en el laboratorio de productos de origen marino de CIAD:



**Figura 8.** Cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama (CG-FID) Agilent Technology, modelo 6890N network GC System, con autoinyector.

- 1) Se inyectaron 5  $\mu\text{L}$  de muestra, por duplicado.
- 2) La temperatura del inyector fue de 250°C.
- 3) La temperatura inicial de la columna fue de 50°C, la cual aumentó 25°C por minuto, hasta alcanzar 175°C.
- 4) Luego, la temperatura aumentó 12°C por minuto, hasta 230°C. Una vez alcanzada esta temperatura, permaneció sin variación por 16 minutos.
- 5) La temperatura del detector fue de 280°C.
- 6) La duración de la corrida cromatográfica fue de 25 minutos

### **Análisis de Cromatogramas**

Para la correcta identificación de los ácidos grasos presentes en las muestras, se compararon los tiempos de retención de cada señal obtenida en el cromatograma, con el tiempo de retención de un estándar comercial de nombre 37 FAME Mix<sup>TM</sup>, de la marca Supelco, el cual contiene una mezcla de 37 ácidos grasos de entre 4 y 24 carbonos; saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. La composición del estándar se muestra en la tabla II.

Una vez identificados las señales, se determinó la proporción (%) de cada ácido graso presente en la muestra utilizando el programa Excel 2013. Primeramente se calculó la sumatoria del área de todos los picos y se obtuvo el promedio de los duplicados de cada muestra. A partir de este cálculo, se determinó el porcentaje de cada ácido graso.

Posteriormente, se seleccionaron los ácidos grasos que se incluirían en el análisis estadístico, con base en los siguientes criterios: 1) presencia en todas las muestras, 2) esqueleto carbonado de entre 14 y 22 carbonos y 3) número par de carbonos en la molécula. Es importante resaltar que, aquellas muestras que no cumplieron con el primer criterio, fueron excluidas del análisis.

**Tabla II.** Composición del estándar 37 FAME Mix™, Supelco.

Señal	AG	Notación corta
1	Ac. Butírico	C4:0
2	Ac. Caproico	C6:0
3	Ac. Caprílico	C8:0
4	Ac. Cáprico	C10:0
5	Ac. Undecanoico	C11:0
6	Ac. Láurico	C12:0
7	Ac. Tridecanóico	C13:0
8	AC. Mirístico	C14:0
9	Ac. Miristoleico	C14:1 n-5
10	Ac. Pentadecanoico	C15:0
11	Ac. Z-10-Pentadecenóico	C15:1
12	Ac. Palmítico	C16:0
13	Ac. Palmitoléico	C16:1 n-7
14	Ac. Heptadecanóico	C17:0
15	Ac. Z-10-Heptadecenóico	C17:1
16	Ac. Esteárcio	C18:0
17	Ac. Eláidico	C18:1 n-9 E
18	Ac. Oléico	C18:1 n-9 Z
19	Ac. Linoleláidico	C18:2 n-6 E
20	Ac. Linoleico	C18:2 n-6 Z
21	Ac. Araquídico	C20:0
22	Ac. Gamma-linolénico	C18:3 n-6
23	Ac. Z-11-Eicosenoico	C20:1 n-9
24	Ac. Alfa-linolénico	C18:3 n-3
25	Ac. Heneicosanóico	C21:0
26	Ac. Z-11,Z-14-Eicosadienóico	C20:2 n-6
27	Ac. Behénico	C22:0
28	Ac. Z-8, Z-11, Z-14-Eicosatrienóico	C20:3 n-6
29	Ac. Erúcico	C22:1 n-9
30	Ac. Z-11, Z-14, Z-17-Eicosatrienóico	C20:3 n-3
31	Ac. Araquidónico	C20:4 n-6
32	Ac. Tricosanóico	C23:0
33	Ac. Z-13, Z-16-Docosadienóico	C22:2 n-6
34	Ac. Lignocérico	C24:0
35	Ac. Z-5, Z-8, Z-11, Z-14, Z-17-Eicosapentaenóico	C20:5 n-3
36	Ac. Nervónico	C24:1 n-9
37	Ac. Z-4, Z-7, Z-10, Z-13, Z-16, Z-19-Docosahexaenóico	C22:6 n-3

A partir de esta selección, se estableció un algoritmo en el sistema operativo Excel, mediante el cual se ajustó la proporción de ácidos grasos, siendo el 100% la sumatoria de todos los ácidos grasos seleccionados para el análisis. Los parámetros de ácidos grasos se muestran en la tabla III.

### **Examen de Sensibilización**

La producción de anticuerpos IgE específicos contra alérgenos, es la principal característica fisiopatológica de las enfermedades alérgicas (Abbas y col., 2015). Para la detección de sensibilización alérgica, se realizó el test cualitativo Phadiatop®, en el equipo automatizado ImmunoCAP 100® (Figura 9). Esta metodología está basada en un ELISA (siglas en inglés de *Enzyme Linked Immunosorbed Assay*) en sándwich (Figura 10), donde la matriz tiene una mezcla de alérgenos relevantes unida de forma covalente a la fase sólida (matriz de celulosa activada con bromuro de cianógeno), que reacciona con la IgE específica de la muestra de suero (50 µL) en estudio. Después de eliminar la IgE no específica mediante lavado, se incubó con 50 µL de la solución de conjugado (anticuerpos contra IgE marcados con enzimas). El anticuerpo anti-IgE no unido marcado con enzimas es eliminado y la mezcla de unión se incubó con 50 µL de un agente desarrollador de fluorescencia. Después se añaden 400 µL de solución de parada de reacción, se mide la fluorescencia. Cuanto más elevada sea la fluorescencia, más IgE específica habrá en la muestra. La prueba se realiza utilizando el calibrador 0,35 KU/l de IgE específica como punto de corte.

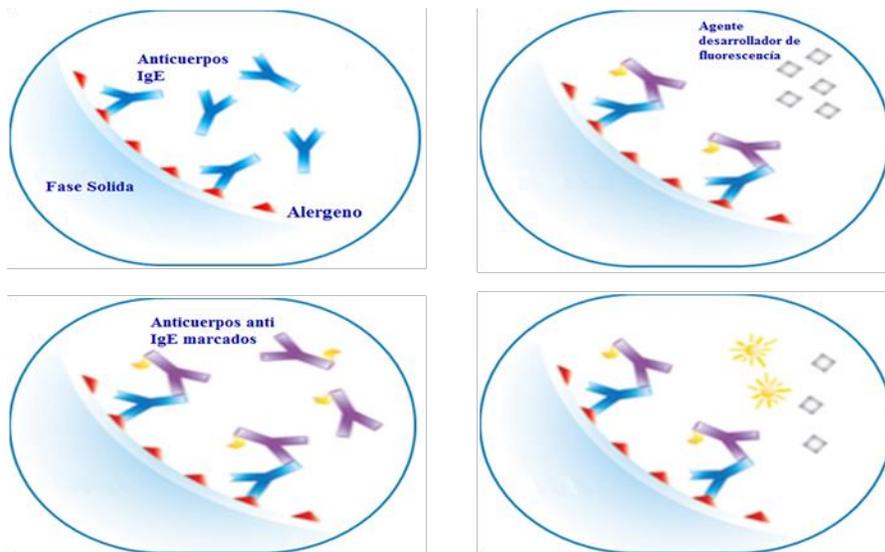
Este método tiene una sensibilidad del 93% y una especificidad del 89%. Por lo tanto es un test válido como primer escalón para confirmar o excluir la presencia de sensibilización mediada por IgE. El resultado permite identificar oportunamente, la presencia de sensibilización alérgica, aún antes de que los síntomas aparezcan. Además de que en conjunto con la presencia de algún

**Tabla III.** Parámetros de ácidos grasos.

<b>Parámetro</b>	<b>Cálculo</b>
Porcentaje de ácidos grasos saturados (% AGS)	Sumatoria del porcentaje de ácido mirístico (C14:0), ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0) y ácido araquídico (C20:0).
Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados (%AGMI)	Sumatoria del porcentaje de ácido palmitoléico (C16:1 n-7), ácido eláidico (C18:1 n-9, E), ácido oleico (C18:1 n-9, Z) y ácido 11-eicosenóico (C20:1 n-9).
Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados (% AGPI)	Sumatoria del porcentaje de LA, ALA, GLA, DGLA, AA, EPA, DHA, ácido docosatetraenóico (DTA, C22:4 n-6), ácido docosapentaenóico (DPA, C22:5 n-6), ácido docosapentaenóico (DPA, C22:5 n-3) y ácido 11, 14-eicosadienóico (C20:2 n-6).
Porcentaje de ácidos grasos altamente insaturados (%AGAI)	Sumatoria del porcentaje de EPA, AA, DHA, DTA, DPA n-6 y DPA n-3.
Proporción de n-6	Sumatoria del porcentaje de LA, GLA, DGLA, AA, DTA n-6 y DPA n-6.
Proporción de n-3	Sumatoria del porcentaje de ALA, EPA, DHA y DPA n-3.
LA/ALA	Cociente del porcentaje de LA y ALA
AA/EPA	Cociente del porcentaje de AA y EPA
Índice de Omega 3	Sumatoria del porcentaje de EPA y DHA
Omega 6/ Omega 3	Cociente de la proporción de n-6 y proporción de n-3



**Figura 9.** Equipo automatizado ImmunoCAP 100.



**Figura 10.** ELISA en sandwisch.

signo o síntoma atópico (por ejemplo, dermatitis atópica), permite una intervención temprana sobre el fenómeno de la “marcha alérgica” (Sandeep y col., 2010).

### **Análisis Estadístico**

Los resultados se analizaron con el programa SPSS 20, IBM 2012. Se utilizaron medidas de tendencia central (media y promedio) para resumir los valores de las variables cuantitativas. Por su parte, las variables cualitativas se resumen en forma de frecuencias (porcentaje) con respecto a la población general o a cada uno de los grupos. Se utilizó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney para evaluar las diferencias entre los grupos.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Este es el primer estudio, a nivel nacional, en el cual se comparan los niveles de ácidos grasos n-6 y n-3 de individuos sensibilizados y no sensibilizados.

### **Población de Estudio**

Se inició con un total de 86 voluntarios que fueron invitados a participar en el estudio. No obstante, 17 de ellos fueron excluidos debido a los criterios de inclusión y de exclusión. Tomando en consideración los resultados del perfil de ácidos grasos, se excluyó del análisis a 3 voluntarios más; además, un voluntario decidió abandonar el estudio por motivos personales.

Luego del proceso de selección de participantes, se incluyó en el estudio a 65 adultos, todos ellos habitantes de la ciudad de Hermosillo, Sonora. La edad promedio de la población fue de 30 años, con un rango de 18 a 55 años. La mayor parte de los individuos, 41(63%) fueron de sexo femenino, y la menor parte, 24 (37%) de sexo masculino. La edad media por sexo fue de 28 años para los hombres y 31 para las mujeres.

El 89% (58) de la población pertenece al grupo étnico mestizo, y el 11% (7) restante. Pertenecen al grupo caucásico. El 81% (54) de la población nació en el estado de Sonora, 6% en Estados Unidos de América (EUA) y 3% (2) en Sinaloa. La mayor parte de los individuos, 97% (63) habitan en zonas urbanas, y presentan un alto grado de escolaridad, pues el 78% (51) ha estudiado por 13 años o más. Las ocupaciones más frecuentes en la población fueron: estudiante 45% (31) y profesionista, 31% (20).

En cuanto al estatus socioeconómico, la mayor parte de los individuos [87% (57)] reportaron un estatus medio. La totalidad de las características socio-demográficas de la población se resumen en la tabla IV.

**Tabla IV.** Características socio-demográficas de la población de estudio.

	Población total	Sensibilizados	No sensibilizados
n	65	26	39
Sexo h[m]	24(41)	14(12)	10(29)
Edad	30 (18-55)	21.6 (21-22)	26.2 (22-39)
Grupo étnico			
Mestizo	89% (58)	81% (21)	95% (37)
Caucásico	11% (7)	19% (5)	5% (2)
Grupo sanguíneo			
A positivo	38% (25)	27% (7)	46% (18)
B positivo	15% (9)	19% (5)	10% (4)
B negativo	2% (1)	(0)	3% (1)
0 positivo	43% (29)	50% (13)	41 % (16)
AB negativo	2% (1)	4%(1)	(0)
Lugar de nacimiento			
Sonora	81% (54)	84% (22)	80% (32)
Sinaloa	3% (2)	4% (1)	3% (1)
Durango	2% (1)	(0)	3% (1)
Puebla	2% (1)	4% (1)	(0)
Baja California	2% (1)	(0)	3% (1)
DF	2% (1)	4% (1)	(0)
Monterey	2% (1)	(0)	3% (1)
EUA	6% (4)	4% (1)	8% (3)
Área de residencia			
Urbana	97% (63)	100% (26)	95% (37)
Suburbana	3% (2)	(0)	5% (2)
Escolaridad			
7 a 12 años	22% (14)	12% (3)	28% (11)
> 13 años	78% (51)	88% (23)	72% (6)
Ocupación			
Estudiante	45% (31)	38% (10)	52% (21)
Profesionista	31% (20)	37% (10)	26% (10)
Empleado	9% (6)	5% (1)	13% (5)
Ama de casa	5% (3)	5% (1)	5%(2)
Docente	2% (1)	5% (1)	(0)
Construcción	2% (1)	(0)	2% (1)
Obrero	2% (1)	(0)	2% (1)
Comerciante	2% (1)	5% (1)	(0)
Ninguna	2% (1)	5% (1)	(0)
Nivel socioeconómico			
Alto	8% (5)	8% (2)	8% (3)
Medio	87% (57)	84% (22)	90% (35)
Bajo	5% (3)	8% (2)	2% (1)

DF: Distrito Federal; EUA: Estados Unidos de América.

## **Análisis Bioquímico y Citometría Hemática**

El análisis bioquímico y la citometría hemática fueron realizados para evaluar el estado de salud general de los individuos, y con base en los resultados de este análisis y los criterios de inclusión y exclusión establecidos para cada grupo, se seleccionó a los participantes (tabla V). Por lo tanto, los individuos con resultados fuera del rango normal en las diversas determinaciones realizadas, fueron excluidos del estudio. Por lo anterior, se considera que la población seleccionada es “aparentemente sana”.

## **Examen Coproparasitológico**

El análisis coproparasitológico de la población de estudio arrojó los resultados siguientes: 3 individuos, presentaron quistes parasitarios. Los quistes parasitarios observados fueron: *Giardia lamblia* (en uno de los casos), así como la colonización simultánea por *Endolimax nana* y *Blastocystis hominis* (en 2 participantes). El primero de ellos, fue excluido, debido a que *G. lamblia* es un parásito patógeno, y el hallazgo de quistes en heces fecales de pacientes, es indicativo de giardiasis (Díaz Carbonell y Fernández-Alonso Barrojo, 1996).

Se decidió incluir a los participantes colonizados por *E. nana* y *B. hominis*, ya que a éstos se les considera parásitos comensales; es decir, no son patogénicos y ninguno presenta migración visceral, por lo que, su presencia, no afecta los criterios de inclusión del presente trabajo.

## **Sensibilización Alérgica**

La sensibilización alérgica fue determinada mediante el test cualitativo Phadiatop®, el cual permite detectar la presencia de anticuerpos IgE específicos frente a un panel de alérgenos comunes. Los resultados obtenidos

**Tabla V.** Análisis bioquímico y citometría hemática de los grupos de estudio.

	<b>Sensibilizados (n=26)</b>	<b>No sensibilizados (n=39)</b>	<b>p</b>
Glucosa (mg/dL)	84 ± 7.5	88±7.4	0.598
Urea (mg/dL)	26.4 ± 4.4	23.1±5.4	0.375
Ácido úrico (mg/dL)	4.2 ± 2.0	3.53±1.0	0.628
Creatinina (mg/dL)	0.9 ± 0.25	0.7±0.2	0.439
Colesterol (mg/dL)	138 ± 18.0	149±32	0.421
Triglicéridos (mg/dL)	74 ± 12.6	84±62	0.381
Eritrocitos (M/ $\mu$ L)	4.78 ± 0.5	4.76±0.4	0.916
Hemoglobina (g/dL)	13.7 ± 1.5	14.1±1.7	0.618
Hematocrito (%)	42.8 ± 4.0	44±4.6	0.547
VCM (fL)	88.6 ± 3.56	92.6±3.7	0.728
HCM (g/dL)	32 ± 1.04	31.9±0.8	0.643
RDW (%)	13 ± 0.4	13.4±0.6	0.493
Leucocitos (K/ $\mu$ L)	5.4 ± 2.0	4.37±0.4	0.283
Basófilos	54 ± 20	45±38	0.317
Eosinófilos	180 ± 37	130±16	0.03
Banda	310 ± 67	274±89	0.301
Neutrófilos	3297 ± 523	2119±151	0.02
Linfocitos	1772 ± 722	1498±391	0.355
Monocitos	350 ± 127	304±74	0.237
Plaquetas	239 ± 103	257±30	0.862
VPM	9.8 ± 1.3	9.5±0.6	0.741

VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, VPM: volumen plaquetario medio.

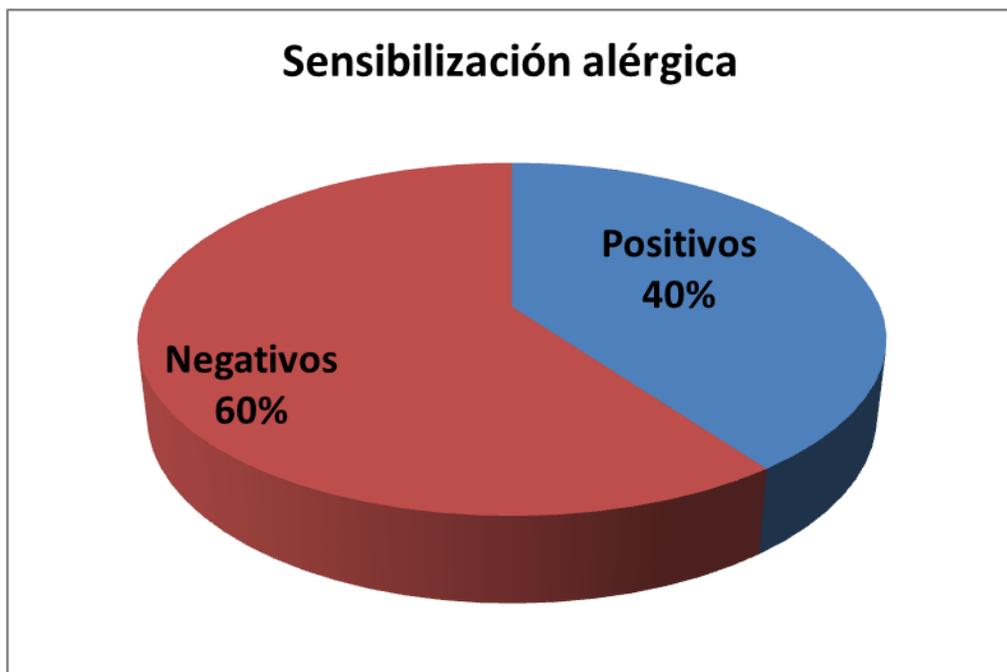
indican que del total de la población estudiada (65 individuos), 26 (40%), presentan sensibilización alérgica; es decir la prueba Phadiatop® resultó positiva para los alérgenos contenidos en el panel (Figura 11).

La prevalencia de sensibilización alérgica encontrada en el presente estudio concuerda con la prevalencia reportada a nivel global (Pawankar y col., 2011; Zubeldía y col., 2012), y con la prevalencia encontrada en estudios realizados en nuestro país (López Pérez y col., 2009). Si bien la sensibilización alérgica no es considerada una enfermedad (Abbas y col., 2015), constituye el principal factor de riesgo para el desarrollo de manifestaciones clínicas de alergia (Furujeim y col., 2011), por lo cual, su hallazgo es de suma importancia para el mantenimiento de la salud del paciente.

Como se muestra en la tabla V, la única diferencia estadísticamente significativa en los resultados de laboratorio de los grupos de estudio son: el conteo de eosinófilos ( $180 \pm 37$  y  $130 \pm 16$ ;  $p=0.03$ ), y el conteo de neutrófilos segmentados ( $3297 \pm 523$  y  $2119 \pm 151$ ). Este hallazgo es consistente con el conocimiento respecto a los mecanismos de las enfermedades alérgicas, pues se sabe que es común encontrar cifras elevadas de eosinófilos y, en ocasiones, neutrófilos, en pacientes alérgicos (Fajt, y Wenzel, 2015). No obstante, hay que señalar que, debido a los criterios de inclusión y exclusión, ninguno de los pacientes presentó cifras de eosinófilos o neutrófilos superiores a los valores de referencia, por lo que.

### **Perfil de Ácidos Grasos**

En la tabla VI se muestran los 19 ácidos grasos seleccionados para realizar el análisis del perfil de ácidos grasos, con su respectivo tiempo de retención. El principal criterio de selección fue: que el ácido graso seleccionado estuviera presente en la mayor cantidad de muestras posibles. Las muestras que presentaron menor o mayor variedad de ácidos grasos, fueron excluidas del



**Figura 11.** Prevalencia de sensibilización alérgica en la población de estudio.

**Tabla VI.** Ácidos grasos incluidos en el análisis.

	<b>Ácido Graso</b>	<b>Nombre</b>	<b>Tiempo de Retención</b>
1	C14:0	Ac. Mirístico	10.932
2	C16:0	Ac. Palmítico	12.179
3	C16:1 n-7	Ac. Palmitoleico	12.872
4	C18:0	Ac. Esteárico	13.632
5	C18:1 n-9t	Ac. Elaídico	13.779
6	C18:1 n-9	Ac. Oleico	13.887
7	C18:2 n-6	LA	14.343
8	C20:0	Ac. Araquídico	15.181
9	C18:3 n-6	Ac. Gamma-linolénico	15.447
10	C20:1 n-9	Ac. Z-11-eicosenóico	15.665
11	C18:3 n-3	ALA	15.8
12	C20:2 n-6	Ac. Z-11-,Z-14-eicosadienóico	16.45
13	C20:3 n-6	Ac. Dihomo-gamma-linolénico	16.869
14	C20:4 n-6	Ac. Araquidónico	17.16
15	C20:5 n-3	EPA	20.578
16	C22:4 n-6	Ac. Docosatetranóico	20.887
17	C22:5 n-6	Ac. Docosapentanóico	21.528
18	C22:5 n-3	Ac. Docosapentanóico	22.021
19	C24:6 n-3	DHA	22.415

ALA: ácido  $\alpha$ -linolénico, DHA: ácido docosahexaenóico, EPA: ácido eicosapentaenóico, LA: ácido linoleico

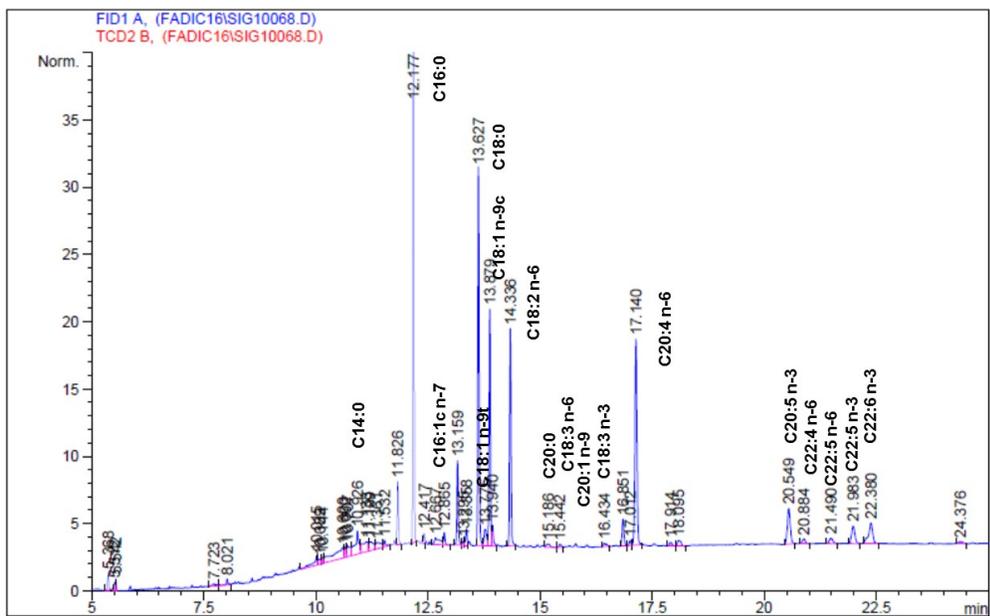
análisis. Concretamente, 1 de las muestras presentó una mayor variedad de ácidos grasos y 2 muestras más ostentaron una variedad inferior al resto. En las figuras 12 y 13, se presentan los cromatogramas correspondientes a un individuo sensibilizado y a uno no sensibilizado.

En contraste con lo esperado, y con lo reportado en la literatura (Hoff y col., 2005), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de ácidos grasos n-6 y n-3 de los grupos de estudio (Tabla VII). Esto puede deberse a varios factores, tales como: el tamaño reducido de la muestra o lo estricto de los criterios de inclusión y exclusión, que pudieron haber propiciado la formación de una población extremadamente homogénea, o a el tipo de alimentación de los individuos (Potalla y col., 2012).

Adicional al perfil de ácidos grasos, se determinó una serie de parámetros relacionados con el estatus de ácidos grasos, en el cual se presenta una perspectiva global de las diversas clases y familias de ácidos grasos presentes en las muestras analizadas. En la tabla VIII, se muestra la comparación de los parámetros de ácidos grasos calculados a partir del perfil de ácidos grasos.

El hallazgo más destacable en este apartado es la diferencia estadísticamente significativa entre la proporción de LA/ALA. Los individuos sensibilizados presentaron un valor superior al de los individuos no sensibilizados (41.02 y 36.49, respectivamente.  $p= 0.04$ ).

Este resultado es relevante porque es consistente con lo propuesto por Black y Sharpe en la hipótesis de los ácidos grasos. En esta hipótesis se especula que el alto consumo de LA, característica notable de la dieta moderna occidentalizada, contribuye al establecimiento de alergia, mediante la preparación de las condiciones necesarias para su desarrollo (Black y Sharpe, 1997). Siendo, en ambos grupos, un resultado desfavorable.



**Tabla VII.** Perfil de ácidos grasos.

		Total (%)	Sensibilizados	No sensibilizados
		n=65	n=26	n=39
<b>ÁCIDOS GRASOS SATURADOS</b>				
1	C14:0	1.84	1.22	1.73
2	Ac. Palmítico	22.40	22.42	22.91
3	Ac. Estearico	19.19	19.16	19.67
4	Ac. Araquidico	0.34	0.32	0.36
<b>ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS</b>				
1	C16:1 n-7	1.26	1.04	0.93
2	Ac. Palmitoleico	1.74	1.91	1.36
3	Ac. Oleico	12.63	12.18	12.89
4	Ac. Z-11-eicosenoico	0.32	0.31	0.32
<b>ÁCIDOS GRASOS OMEGA 6</b>				
1	C18:2 n-6	12.28	12.38	12.25
2	Ac. Linoleico	0.32	0.31	0.32
3	Ac. Gamma-linolénico	0.36	0.35	0.36
4	Ac. Z-11,Z-14-eicosadienoico	1.72	1.77	1.69
5	Ac. Dihomo-gamma-linolénico	14.56	14.61	14.52
6	Ac. Araquidónico	0.72	0.68	0.74
7	Ac. Docosatetranoico	0.84	0.83	0.85
<b>ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3</b>				
1	C18:3 n-3	0.34	0.31	0.36
2	Ac. Alfa-linolénico	3.63	4.01	3.38
3	EPA	1.97	2.12	1.87
4	Ac. Docosapentanoico	3.84	4.09	3.67
	DHA			

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de ácidos grasos entre el grupo de sensibilizados y no sensibilizados.

**Tabla VIII.** Parámetros de ácidos grasos.

Parámetro	Grupo		<i>p</i>
	No sensibilizado	Sensibilizado	
% AGS	44.23	43.12	0.239
% AGMI	16.27	15.43	0.345
% AGPI	39.67	41.45	0.284
% AGAI	25.02	26.33	0.306
% omega 6	30.41	30.94	0.627
% omega 3	9.27	10.52	0.198
LA/ALA	36.49	41.02	0.04
AA/EPA	4.42	4.16	0.266
Índice de n-3	7.04	8.09	0.201
n-6/n-3	3.43	3.06	0.243

AGS: ácidos grasos saturados, AGMI: ácidos grasos monoinsaturados, AGPI: ácidos grasos poliinsaturados, AGAI: ácidos grasos altamente insaturados, LA: ácido linoleico, ALA: ácido alfa-linolenico, AA: ácido araquidónico, EPA, ácido eicosapentaenoico.

El parámetro LA/ALA, indica que los individuos sensibilizados consumen cantidades superiores de LA, en comparación con los individuos no sensibilizados. Esto se debe a que el LA proviene única y exclusivamente de fuentes alimentarias, como lo son los aceites de origen vegetal y las comidas rápidas (Sears y Ricordi, 2010). No obstante, los individuos no sensibilizados no presentan una proporción óptima, la cual debiera ser cercana a 2 (van den Elsen y col., 2013).

Una dieta rica en LA, implica que éste se acumule en grandes cantidades en los depósitos tisulares (Bosma-der Boer y col., 2012), tal como se observa en los sujetos de ambos grupos de estudio, los cuales presentan un alto porcentaje de LA en sus eritrocitos. Esto provoca que la eficiencia de la cascada de desaturación/elongación disminuya, y por adición, la formación de EPA y DHA a partir del ALA (Mimal-Ratnayake y Galli, 2009). La disfunción es tal que, el ALA ingerido, es desviado casi exclusivamente a  $\beta$ -oxidación, dando como resultado, bajos niveles de ácidos grasos n-3 en general y de ALA en particular (Chilton y col., 2014). Este efecto es consistente con los resultados del estudio, pues los sujetos presentaron alta proporción de LA y muy baja proporción de ALA.

Se piensa que el principal mecanismo mediante el cual el LA contribuye a la patogénesis de la alergia es: 1) aumentando la producción de ácido AA, lo que desencadena su acumulación en los depósitos celulares, y 2) la transformación del AA endógeno en eicosanoides pro-alérgicos, como la PGE2 y el LTC4, los cuales participan en la inducción del cambio de isotipo a IgE y en la diferenciación de células efectoras como eosinófilos y mastocitos (Shek y col. 2012). Si bien, en el presente estudio, no se cuantificaron los niveles de PGE2 y LTC4 de los pacientes, los resultados del test de sensibilización alérgica Phadiatop® y el conteo de eosinófilos en sangre periférica de los individuos sensibilizados, son consistentes con los mecanismos antes mencionados, pues los individuos sensibilizados mostraron cifras

superiores de eosinófilos en sangre periférica, aunque sin mostrar eosinofilia en ningún caso.

Por su parte, la proporción de AA/EPA, parámetro que da un indicio del tipo de eicosanoides predominantes que son producidos durante las respuestas inflamatorias (Sears y Ricordi, 2010). En este caso, el parámetro indica que el principal sustrato disponible para la síntesis de mediadores lipídicos en ambos grupos, es el AA (Arceo Giorgana y col., 2007).

El índice de omega 3, que indica la proporción de los ácidos grasos n-3 con mayor relevancia biológica (EPA y DHA) con respecto a los ácidos grasos totales, resultó ser inferior a lo considerado saludable (11.5%) (von Schacky, 2011), para ambos grupos. Por lo tanto, la población completa presenta una deficiencia en ácidos grasos n-3.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Este es el primer estudio, a nivel nacional, en el cual se comparan los niveles de ácidos grasos n-6 y n-3 de individuos sensibilizados y no sensibilizados.

En el presente trabajo la prevalencia de sensibilización alérgica fue del 40%, lo cual concuerda con la prevalencia global de enfermedades alérgicas estimada por la organización mundial de las alergias, WAO por sus siglas en inglés.

No se encontraron diferencias entre el perfil de ácidos grasos de individuos sensibilizados y no sensibilizados, presentando ambos grupos un serio desequilibrio entre los ácidos grasos n-6 y n-3. No obstante, la proporción de LA/ALA en los eritrocitos de los individuos sensibilizados superior a la de los no sensibilizados.

Este último hallazgo concuerda con lo propuesto de la hipótesis de los ácidos grasos de Black y Sharpe, la cual postula que, el incremento en la proporción de tisular de LA, puede incrementar el riesgo de desarrollar alergia.

Se recomienda aumentar el número de sujetos de estudio, para mejorar el poder estadístico, y poder extrapolar los resultados del estudio a nivel poblacional.

## REFERENCIAS

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., Pillai, S. 2015. *Inmunología Celular y Molecular*, octava edición. Elsevier. Barcelona, España. –
- Arceo Giorgana, L., Evia Arceo, M. A., Jiménez Soto, A., 2007. Inflamación silenciosa. Recomendaciones para reconocer el estado de salud óptima en pacientes quirúrgicos. *Cir Plast.*17(3): 155-160.
- Araujo, P., Inguyen, T. T., Froyland, L., Wang, J., Kang, J. X. 2008. Evaluation of a rapid method for the quantitative analysis of fatty acids in various matrices. *J Chromatogr.* 12(1-2): 106-113.
- Barnes, P. J. 2011. Pathophysiology of allergic inflammation. *Immunol Rev.* 242: 31–50.
- Basiouni, S., Stockel, K., Fuhrmann, H., Schumann, J. 2012. Polyunsaturated fatty acid supplements modulate mast cell membrane microdomain composition. *Cell Immunol.* 275(1-2): 42-46.
- Bedolla Barajas, M., Hernández Colín, D. D., Sainz Hernández, J., Morales Romero, J. 2011. Sensibilización a alergenos en adultos mexicanos con asma; la experiencia en un hospital escuela. *Rev Alergia Mex.* 58(3): 133-141.
- Besnard A. G., Togbe D., Guillou N., Erard F., Quesniaux V., Ryffel B. 2011. IL-33-activated dendritic cells are critical for allergic airway inflammation. *Eur J Immunol.* 41: 1675-1686
- Bischoff, S. C. 2008. Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data. *Nature Reviews immunol.* 7: 93-104.

- Blanchard C., Rothenberg M. E. 2009. Eosinophils: multifunctional and distinctive properties. *Adv Immunol.* 101: 81-121.
- Brock, T. G., Peters-Golden, M. 2007. Activation and Regulation of Cellular Eicosanoid Biosynthesis. *TheScientificWorldJOURNAL.* 7: 1273–1284
- Bulfone-Paus S., Bahri R. 2015. Mast cells as regulators of T cell responses. *Front Immunol.* 6(394): 1-6.
- Burke, J. E., Dennis, E. A. 2009. Phospholipase A2 structure/function, mechanism, and signaling. *J Lipid Res.* 2009: S237–S242.
- Chilton, F. H., Murphy, R. C., Wilson, B. A., Sergeant, S., Ainsworth, H., Seeds, M. C. 2014. Diet-Gene Interactions and PUFA Metabolism: A Potential Contributor to Health Disparities and Human Diseases. *Nutrients.* 2014:6;1993-2022.
- D’Vaz, N., Meldrum, S. J., Dunstan, J. A., Lee Pullen, T. F., Metcalfe, J., Holt, B. J. 2012. Fish oil supplementation in early infancy modulates developing infant immune responses. *Clinical & Experimental Allergy.* 42: 1206-1216.
- Dennis, E. A., Norris, P. C. 2015. Eicosanoid Storm in Infection and Inflammation. *Nat Rev Immunol.* 15(8): 511–523.
- Díaz Carbonell, J.V., FernándezAlonso Borrajo, M.E. 1996. Giardiasis: Una breve revisión. Perspectivas diagnósticas en el laboratorio clínico. *An Esp Pediatr.*44:87-91.
- Enroth, S., Dahlbom, I., Hansson, T., Johansson, A., Gyllensten, U. 2013. Prevalence and sensitization of atopic allergy and coeliac disease in the Northern Sweden Population Health Study. *Int J Circumpolar Health.* 72: 21403.
- Fajt, M. L., Wenzel, S. E. 2015. Asthma phenotypes and the use of biologic medications in asthma and allergic disease: The next steps toward personalized care. *J Allergy Clin Immunol.* 135(2): 299-310.

- Farnesi de Assuncao, T. S., Alves, C. F., Carregaro, V., de Oliveira, J. R., da Silva, C. A., Cheraim, A. B. 2012. PPAR-gamma agonists, mainly 15d-PGJ(2), reduce eosinophil recruitment following allergen challenge. *Cell Immunol.* 273(1): 23-29.
- Flock, M. R., Harris, S. W., Kris-Etherton, P. M. 2013. Long-chain omega-3 fatty acids: time to establish a dietary reference intake. *Nutrition Reviews.* 71(10):692–707.
- Furuhjelm, C., Warstedt, K., Fagera, F., Fa'alth-Magnusson, K. 2011. Allergic disease in infants up to 2 years of age in relation to plasma omega-3 fatty acids and maternal fish oil supplementation in pregnancy and lactation. *Pediatr Allergy Immunol.* 22: 505–514.
- Gogus, U., Smith, C. 2010. n-3 Omega fatty acids: a review of current knowledge. *International Journal of Food Science and Technology.* 45: 417–436.
- Gould H. J., and Sutton B. J. 2008. IgE in allergy and asthma today. *Nature Reviews Immunol.* 8: 205-217.
- Grant, G. E., Gravel, S., Guay, J., Patel, P., Mazer, B. D., Rokach, J. 2011. 5-oxo-ETE is a major oxidative stress-induced arachidonate metabolite in B lymphocytes. *Free Radic Biol Med.* 50(10): 1297-12304.
- Groeger, A. L., Cipollina, C., Cole, M. P., Woodcock, S. R., Bonacci, G., Rudolph, T. K., Rudolph, V., Freeman, B. A., Schopfer, F. J. 2010. Cyclooxygenase-2 generates anti-inflammatory mediators from omega-3 fatty acids. *Nature Chem Biol.* 6, 433–441.
- Herberth, G., Heinrich, J., Röder, R., Figl, A., Weiss, M., Diez, U., Borte, M., Herbarth, O., Lehmann, I. 2009. Reduced IFN $\gamma$  and enhanced IL-4-producing CD4 $^{+}$  cord blood T cells are associated with a higher risk for

- atopic dermatitis during the first 2 yr of life. *Pediatr Allergy Immunol.* 21: 5-13.
- Hiroto, K. 2013. Eosinophil: multifunctional and distinctive properties. *Int Arch Allergy Immunol.* 161(2): 3–9.
- Hoff, S., Seiler, H., Heinrich, J., Kompauer, I., Nieters, A., Becker, A., Nagel, G., Gedrich, K., Karg, G., Wolfram, G., Linseisen, J. 2005. Allergic sensitisation and Allergic rinitis are associated with n-3 polyunsaturated fatty acids in the diet and in red blood cell membranes. *Europ J of Clin Nut.* 59: 1071-1080.
- Kaur, N., Chugh, V., Gupta, A. K. 2014. Essential fatty acids as functional components of foods- a review. *J Food Sci Technol.* 51(10): 2289–2303.
- Kindt, T., Goldsby, R., Osborne, B. 2007. *Inmunología de Kuby*, sexta edición. Editorial McGraw-Hill.
- Kong, W., Yen, J. H., Vassiliou, E., Adhikary, S., Toscano, M. G., Ganea, D. 2010. Docosahexaenoic acid prevents dendritic cell maturation and in vitro and in vivo expression of the IL-12 cytokine family. *Lipids Health Dis.* 9:12.
- Krause, T., Koch, A., Friberg, J., Poulsen, L. K., Kristensen, B., Melbye, M. 2002. Frequency of atopy in the Arctic in 1987 and 1998. *Lancet.* 360: 691–692.
- Lands, B. 2015. Omega-3 PUFAs Lower the Propensity for Arachidonic Acid Cascade Overreactions. *BioMed Research International.* 2015: 1-8.
- Lehninger, A. L. 2009. *Principios de Bioquímica*, 5ta Edición. Omega. Barcelona.
- Linneberg A. 2008. Are we getting enough allergens? *Int Arch Allergy Immunol.* 147: 93–100.

- Linneberg, A. 2011. The increase in allergy and extended challenges. *Allergy*. 66(95): 1–3.
- Mathews, C. K., Van Holde, K. E., Ahern, K. G. 2002. Bioquímica, tercera edición. Pearson Educación, S. A., Madrid, España.
- Mimal Ratnayake, W. M., Galli, C. 2009. Fat and Fatty Acid Terminology, Methods of Analysis and Fat Digestion and Metabolism: A Background Review Paper. *Ann Nutr Metab*. 55: 8-43.
- Murphy K., Travers P., Walport M. 2009. Inmunobiología de Janeway, séptima edición McGraw-Hill Pendiente ciudad.
- Ohmori K., Luo Y., Jia Y., Nishida J., Wang Z., Bunting K. D., Wang D., Huang H. 2009. IL-3 Induces Basophil Expansion In Vivo by Directing Granulocyte-Monocyte Progenitors to Differentiate into Basophil Lineage-Restricted Progenitors in the Bone Marrow and by Increasing the Number of Basophil/Mast Cell Progenitors in the Spleen. *J Immunol*. 182: 2835-2841
- Orsavova, J., Misurcova, L., Ambrozova, J. V., Vicha, R., Mlcek, J. 2015. Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. *Int J Mol Sci*. 2015(16): 12871-12890.
- Patterson, E., Wall, R., Fitzgerald, G.F., Ross, R. P., Stanton, C. 2012. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. *J Nut & Met*. 2012: 1-16.
- Petrovic, M., Kezic, N., Bolanca, V. 2010. Optimization of the GC method for routine analysis of the fatty acid profile in several food samples. *Food Chemistry*. 112: 285-291.
- Platzer, B., Baker, K., Pinilla Vera, M., Singer, K., Panduro, M., Lexmond, W. S., Turner, D., Vargas, S. O., Kinet, J. P., Maurer, D., Baron, R. M.,

- Blumberg, R. S., Fiebiger, E. 2015. Dendritic cell-bound IgE functions to restrain allergic inflammation at mucosal sites. *Mucosal Immunol.* 8(3): 516–532.
- Portelli, M. A., Hodge, E., Sayers, I. 2014. Genetic risk factors for the development of allergic disease identified by genome-wide association. *Clinical & Experimental Allergy.* 2014(45): 21-31.
- Potalla, J. V., Espeland, M. A., Polreis, J., Robinson, J., Harris, W. S. 2012. Correcting the effects of -20 °C storage and aliquot size on erythrocyte fatty acid content in the Women’s health Initiative. *Lipids.* 47: 835-846. AOCs 2012.
- Ricciotti, E., FitzGerald, G. A. 2011. Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 31(5): 986–1000.
- Rueda-Parra, Elkin Darío. 2004. Extracción y análisis de ácidos grasos presentes en la hormiga “culona” (*Atta Leavigata*). Tesis de Licenciatura, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga.
- Rutkowski, K., Sowa, P., Rutkowska Talipska, J., Sulkowski, S., Rutkowski, R. 2014. Allergic diseases: the price of civilisational progress. *Postep Derm Alergol* 31(2): 77–83
- Sala, A., Folco, G., Murphy, R. C. 2010. Transcellular biosynthesis of eicosanoids. *Pharmacol Rep.* 62(3): 503–510.
- Sandeep, T., Roopakala, M. S., Delphine Silvia, C. R. W., Chandrashekara, S., Rao, M. 2010. Evaluation of serum immunoglobulin E levels in bronchial asthma. *Lung India.* 27(3):138-40.
- Sears, B., Ricordi, C. 2011. Anti-inflammatory nutrition as a pharmacological approach to treat obesity. *J Obses.* 2011: 1-14.

- Shek, L. P., Chong, M. F., Lim, J. Y. Soh, S., Chong, Y. 2012. Role of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids in infant allergies and respiratory diseases. *Clin & Develop Immunol*. 2012: 1-8.
- Simpson, A., Matinez, F. D. 2010. The role of lipopolysaccharide in the development of atopy in humans. *Clinical & Experimental Allergy*. 2010(40): 209-223.
- Siracusa, M. C., Tait Wojno, E. D., Artis, D. 2012. Functional heterogeneity in the basophil cell lineage *Adv Immunol*. 115: 141–159.
- Skaaby, T., Nystropus Husemoen, L. L., Thuesen, B. H., Jorgensen, T., Linneberg, A. 2015. Lifestyle-Related Factors and atopy in seven danish Population-based studies from different time periods. *PLoS ONE*. 10(9): e0137406.
- Szefel, J. B., Janusz Kruszewski, W. B, Sobczak, E. 2015. Factors Influencing the Eicosanoids Synthesis In Vivo. *BioMed Research International*. 2015:1-6.
- van den Elsen, L. W. J., Nusse, Y., Balvers, M., Redegeld, F. A., Knol, E. F., Garssen, J., Willemsen, L. E. M. 2013. n-3 long-chain pufa reduce allergy-related mediator release by human mast cells in vitro via inhibition of reactive oxygen species. *Brit J Nut*. 109: 1821–1831.
- von Schacky, C. 2011. The Omega-3 Index as a risk factor for cardiovascular diseases. *Prostaglandins & other Lipid Mediators* 96: 94–98.
- Wall, R., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Stanton, C. 2010. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nut Rev*. 68(5): 280–289.
- Weise, C., Hilt, K., Milovanovic, M., Ernst, D., Ruhl, R., Worm, M. 2011. Inhibition of IgE production by docosahexaenoic acid is mediated by

- direct interference with STAT6 and NFkappaB pathway in human B cells. *J Nutr Biochem.* 22(3): 269-275.
- White, P. J., Marette, A. 2014. Potential role of omega-3-derived resolution mediators in metabolic inflammation. *Immunol and Cell Biol.* 92: 324-330.
- Wingender, G., Rogers, P., Batzer, G., Lee, M. S., Bai, D., Pei, B., Khurana, A., Kronenberg, M., Horner, A. A. 2011. Invariant NKT cells are required for airway inflammation induced by environmental antigens. *J Exp Med.* 208(6): 1151-1162
- Yates, C. M., Calder, P. C., Rainger, G. E. 2014. Pharmacology and therapeutics of omega-3 polyunsaturated fatty acids in chronic inflammatory disease. *Pharmacology & Therapeutics.* 141: 272–282.
- Zeyda, M., Saemann, M. D., Stuhlmeier, K. M., Mascher, D. G., Nowotny, P. N., Zlabinger, G. J. 2005. Polyunsaturated fatty acids block dendritic cell activation and function independently of NF-kappaB activation. *J Biol Chem.* 280(14): 14293-14301.
- Zubeldía, J. M., Baeza, M. L., Jáuregui, I., Senent, C. J. 2012 Libro de las enfermedades alérgicas de la fundación BBVA, primera edición. Nerea (Ed), p. 21. Madrid, España.

## **ANEXOS**

## Anexo 1



### UNIVERSIDAD DE SONORA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

#### Comisión de Evaluación y Seguimiento de Proyectos Académicos

Folio 205

En reunión celebrada el día **22 de Mayo del 2015** por la Comisión de Evaluación y Seguimiento de Proyectos Académicos (CESPA) se revisó la solicitud de **Registro** del proyecto:

**Proyecto:** "Estatus de ácidos grasos omega-3 como indicador predictivo de la severidad de la inmunoreacción alérgica de una población sensibilizada"

**Clave:** USO313001849

**Tipo:** Proyecto Interno de Investigación

**Responsable:** Dr. María Alba Guadalupe Corella Madueño

**Colaboradores:** M.C. Antonio Rascón Careaga  
Dra. Trinidad Quizán Plata  
Dra. María Del Carmen Candia Plata  
Dra. Erika Silva Campa  
Dr. Julián Esparza Romero  
Dra. Karla Guadalupe M En C. Martínez Robinson  
Dra. Claudia Ivonne Dra. Gallego Corella

**Departamento:** Cs. Químico Biológicas

#### DICTAMEN

Después de analizarlo y discutirlo, se acordó su registro, por cumplir con los lineamientos y reglamentación vigente de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud.

ATENTAMENTE

DR. RAMÓN ENRIQUE ROBLES ZEPEDA

*Hayala*  
DRA. GLORIA IRMA AYALA ASTORGA

*[Signature]*  
DRA. JESÚS ADRIANA SOTO GUZMÁN

*maribel plascencia jatomea*  
DRA. MARIBEL PLASCENCIA JATOMEA

*[Signature]*  
M.C.E. GRACIELA HOYOS RUIZ

*[Signature]*  
DR. JULIO ALFREDO GARCÍA PUGA

EL SABER DE MIS HIJOS  
HARA MI GRANDEZA

**DIVISIÓN DE  
CIENCIAS  
BIOLÓGICAS  
Y DE LA SALUD**

DR. EDUARDO RUIZ BUSTOS

DR. JOEL ARIÁS MARTINEZ

c.c.p. Jefe del Departamento

## Anexo 2



### Universidad de Sonora Comisión de Bioética en Investigación

Hermosillo, Sonora., a 01 de octubre de 2015.

**Oficio CBI-UNISON 22/2015**

**DRA. MARÍA ALBA GUADALUPE CORELLA MADUEÑO**  
Departamento de Ciencias Químico Biológicas  
Universidad de Sonora  
Presente.

**ASUNTO:** Dictamen CBI-UNISON

Por este medio, me permito informarle que la Comisión de Bioética en Investigación de la Universidad de Sonora (CBI-UNISON) ha concluido la revisión del proyecto de investigación "Estudio de ácidos grasos omega-3 como indicador predictivo de la severidad de la inmunoreacción alérgica en una población sensibilizada" que usted envió solicitando la valoración bioética correspondiente. En respuesta a su solicitud, la CBI-UNISON emite el siguiente:

#### **DICTAMEN FAVORABLE**

La CBI-UNISON considera que en la investigación propuesta hay riesgos mínimos para los participantes y que puede ejecutarse en los tiempos programados. Le solicitamos que informe a la CBI-UNISON, en un plazo que no supere los 6 meses desde el comienzo del estudio, un resumen de los avances del proyecto, particularmente de los aspectos bioéticos correspondientes. Le solicitamos que cualquier adición al proyecto que involucre aspectos bioéticos sea informado a esta Comisión antes de proceder a su eventual implementación. Finalmente, le comunicamos que este dictamen sólo ampara el protocolo evaluado y no aquellos que se deriven del mismo.

#### **ATENTAMENTE**

Por la Comisión de Bioética en Investigación de la Universidad de Sonora

**Dr. Enrique Bolado Martínez**  
Presidente

C.c.p. Archivo CBI-UNISON

### Anexo 3

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

**Título del estudio:** Ácidos grasos omega-3 como indicador predictivo en las reacciones alérgicas.

**Investigador Principal:** Dra. María Alba Guadalupe Corella Madueño

**Sede donde se realizará el estudio:** Universidad de Sonora

**Nombre** \_\_\_\_\_ **del** \_\_\_\_\_ **participante:**

Esta es una invitación para que participe de manera voluntaria en una Investigación Biomédica y en caso de que el participante sea menor de edad, la autorización será por el padre o tutor. Antes de autorizar la participación, debe conocer y comprender cada uno de los puntos de la investigación. Este proceso se conoce como *Consentimiento Informado*. Siéntase en absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido el estudio, entonces le pediremos que firme esta *Hoja de Consentimiento Informado*, así como se solicitará la firma de dos testigos.

#### JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

En las últimas décadas se han incrementado de manera alarmante las tasas de prevalencia de enfermedades alérgicas como el asma, la rinoconjuntivitis y la dermatitis atópica (eczema), de forma paralela a la adopción de un estilo de vida occidentalizado. Este estilo de vida favorece un desbalance de los ácidos grasos presentes en sangre, debido al alto consumo de alimentos ricos en ácidos grasos omega 6 (aceites vegetales, comida chatarra, frituras) y alimentos ricos en azúcar (bebidas azucaradas, panes, granos), así como bajo consumo de en alimentos fuente de ácidos grasos omega 3 (atún, sardina y otros pescados). Sin embargo, no se ha estudiado la asociación entre los ácidos grasos presentes en la sangre y el estado alérgico.

#### OBJETIVO DEL ESTUDIO

Determinar el grado de asociación entre los ácidos grasos presentes en la sangre, estado nutricio y la presencia de enfermedades alérgicas en población infantil y adulta de la ciudad de Hermosillo, Sonora, México.

### **BENEFICIOS DEL ESTUDIO**

El estudio permitirá la detección de sensibilización alérgica, al mismo tiempo podrá conocer su estado nutricional y los ácidos grasos presentes en la sangre, estudios que le serán útiles para buscar atención médica adecuada. Esta investigación también proporcionará información acerca de un padecimiento que es relativamente frecuente en Sonora, lo que puede ayudar a proponer alternativas para la prevención y control de ambas enfermedades.

### **PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

En caso de aceptar de manera voluntaria su participación, se le realizarán algunas preguntas acerca de sus condiciones generales de vida como su domicilio, edad, escolaridad, ocupación e ingresos mensuales, también se le preguntará sobre los alimentos que consume con frecuencia. Para ello le pediremos que responda un cuestionario que en promedio toma 20 minutos. Además, al participante se le tomarán medidas de peso y talla, circunferencia de cintura, así como una muestra de sangre de aproximadamente 10 ml para detectar sensibilización alérgica, realizar análisis de ácidos grasos; también proporcionará 3 muestras de heces fecales para búsqueda de parásitos intestinales. Todos los análisis se realizarán de forma gratuita. En caso de que el participante resultara positivo a alguna de las pruebas, se le canalizará para recibir atención médica conveniente.

Su autorización para la inclusión en este estudio, no incluye ninguna compensación financiera o material.

Acepto la participación  
Nombre y firma

\_\_\_\_\_

Testigo 1 \_\_\_\_\_ Testigo 2 \_\_\_\_\_

## Anexo 4

### Cuestionario: Datos Socio-Demográficos

Fecha:	Folio:
Nombre:	
Grupo sanguíneo:	
Institución:	

#### Datos sociodemográficos:

1) Edad:

2) Sexo:      (1) Femenino      (2) Masculino

3) Grupo étnico:

(1) Mestizo    (2) Blanco    (3) Otro ¿Cuál?

4) Lugar de nacimiento:

- (1) Sonora, México
- (2) Otro Estado de México. ¿Cuál?
- (3) Otro país. ¿Cuál?

5) Lugar de residencia:

- (1) Sonora
- (2) Otro Estado de México. ¿Dónde?
- (3) En el extranjero. ¿Dónde?

6) Área de residencia:

(1) Urbana (2) Suburbana      (3) Rural

7) Escolaridad:

- (1) No estudios (0 años)
- (2) Primaria (1-6 años)

(3) Secundaria o preparatoria (7-12 años)

(4) Profesional o posgrado (13 o más años)

8) Ocupación:

(1) Agricultura	(5) Empleado(a)	(9) Obrero(a)	(11) Ninguna
(2) Ama de casa	(6) Estudiante	(10) Profesionista	(12) Otra ¿Cuál?
(3) Comerciante	(7) Ganadería		
(4) Construcción	(8) Jornalero(a)		

9) Nivel socioeconómico:      (1) Bajo                      (2) Medio                      (3) Alto

Referencia: Alvarado-Esquivel C, Mercado-Suarez MF, Rodríguez-Briones A, Fallad-Torres L, Ayala-Ayala JO, Nevarez-Piedra LJ, Duran-Morales E, Estrada-Martínez S, Liesenfeld O, Márquez-Conde JA, Martínez-García SA. Seroepidemiology of infection with *Toxoplasma gondii* in healthy blood donors of Durango, Mexico. *BMC Infect Dis.* 2007 Jul 13;7:75.

## **Anexo 5**

### **COVER LETTER/COMMENTS FOR EDITOR**

María Alba Guadalupe Corella Madueño

lcorella@guayacan.uson.mx

Department of Chemical and Biological Science. University of Sonora. CP.  
83000. Hermosillo, Sonora.

Telef. 662 2 59 21 63 and 64.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

### **COMPARISON OF ERYTHROCYTES FATTY ACID PROFILE OF SENSITIZED AND NON-SENSITIZED ADULTS: A PRELIMINARY REPORT**

**Corella-Madueño María Alba Guadalupe<sup>1</sup>, Lozano-Aviles Julio Cesar<sup>2</sup>,  
Rascón-Careaga Antonio<sup>1</sup>, Martínez-Robinson Karla Guadalupe<sup>3</sup>, Candia-  
Plata Maria del Carmen<sup>4</sup>, Silva-Campa Erika<sup>5</sup>, Quizán-Plata Trinidad<sup>1</sup>,  
Romo-Gonzalez Andrea Ernestina<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Department of Chemical and Biological Science. University of Sonora. Hermosillo, Sonora, México. <sup>2</sup>Graduate studies in Science Health, University of Sonora, Hermosillo, Sonora, México. <sup>3</sup>Coordination of Technology of Food of Animal Origin (DTAOA), Research Center for Food and Development (CIAD).<sup>4</sup>Department of Medicine and Health Sciences, University of Sonora, Hermosillo, Sonora, México. <sup>5</sup>Department of Physics Research, University of Sonora, Hermosillo.

### **ABSTRACT AND KEY WORDS**

Over the last decades, the incidence of allergic diseases has dramatically increased. To date, approximately a third of worldwide population are affected

by allergic diseases. Inadequate intake of immunomodulatory factors is related to detrimental immune responses, encouraging the development of allergic sensitization (AS). Omega 6 (n-6) and omega 3 (n-3) PUFA are powerful immunomodulatory factors that may promote or prevent the appearance of AS, respectively. Increase exposure (in time and dose) of immune cells to n-6 PUFA and their derivatives, may result in AS development. knowing if there is a difference among n-3 to n-6 ratio in the body of sensitized and non-sensitized subjects has gained great interest to perform new strategies for the control of allergic diseases. In this cross-sectional analytical prospective study we aimed to compare the erythrocyte fatty acid profile of allergic sensitized and non-sensitized individuals to know if there is a difference in the n-6 to n-3 ratio between these populations. We contacted directly with potential volunteers and scheduled an appointment for extraction of blood samples. For subject selection, a biochemical analysis and a blood count were performed. AS detection were performed with the qualitative immuno-fluorescence assay Phadiatop®. Erythrocyte fatty acids profile was analyzed by gas chromatography with flame ionization detector. AS prevalence in the whole population was 40%. Allergic sensitized and non-sensitized subject shows an imbalance in n-6 to n-3 ratio that was more severe in sensitized group. This information is consistent with the fatty acids hypothesis postulated by Black and Sharpe in 1997.

**KEY WORDS** ALA, Allergic sensitization, Allergy, Fatty acids, LA.

## **INTRODUCTION**

Allergy or allergic diseases are defined as “unnecessarily intense immune responses to antigens known as allergens” in which the individual is predisposed to produce specific IgE antibodies, or AS after exposure to these allergens (1). Over the last decades, the incidence of allergic diseases has dramatically increased (2).

AS is the hallmark of allergic diseases, and indicates that the immunological mechanisms that give rise to allergy have already taken place (3). Currently, near to 40% of worldwide population are sensitized to at least one environmental allergen (4). However, the etiology of AS has not been fully described, but it is accepted that genetics, environmental and immunologic factors play active roles in their appearance (5). In this milieu, attention has been paid to nutritional and metabolic factors as major players in allergy pathogenesis (6, 7), since inadequate intake of immunomodulatory factors is related to detrimental immune responses, encouraging the development of AS and any other inflammatory disorder (7).

n-6 and n-3 PUFA are powerful immunomodulatory factors that exhibit the property to promote or prevent the appearance of AS, respectively (8). The members of both PUFA families can be taken from dietary sources or endogenously generated from dietary precursors namely linoleic acid (LA, C18:2 n-6) and  $\alpha$ -linolenic acid (ALA, C18:3 n-3), through desaturation/elongation cascade (9, 10, 11).

Human evolved in a diet with equilibrated n-6 to n-3 consumption ratio, which round to 1:1 to 4:1 (12). However, the adoption of westernized modern diets brought several nutritional changes caused by increased consumption of LA rich vegetable oils (9, 12, 13) and a decreased intake of long chain n-3 PUFA containing marine food (8, 13).

PUFA consumption ratio undergo altered, leading to the current ratio of 10:1 to 20:1, in favor of n-6 PUFA and their derivatives (12). n-6 PUFA may accumulate in considerably higher amounts than n-3 PUFA in most cellular lipids, because of their lower susceptibility to undergo  $\beta$ -oxidation (10, 11).

Since AA, the main product of LA in desaturase/elongase cascade, can be enzymatically converted into highly bioactive eicosanoids, which have important roles in allergy pathogenesis (12), the increased consumption of LA may increase the exposure (in time and dose) of immune cells to n-6 PUFA and their

derivatives, rising the risk of development and maintenance of allergic status. Prostaglandin (PG) E2 enhances the synthesis of IgE antibodies (6). PGD2 may activate Th2 cell, eosinophils and basophils, in absence of allergen stimuli, resulting to excessive production of interleukin (IL) 4, IL-5 and IL-13 (14). Moreover, there have been report that inflammatory cells isolated from allergic individuals release higher amounts of leukotriene C4 compared with healthy controls and patients with others chronic conditions, suggesting that allergic individuals display continual production of AA metabolites even in basal condition (7).

In this cross-sectional analytical prospective study, we aimed to compare the fatty acid profile of allergic sensitized and non-sensitized individuals, to evaluate the n-6 to n-3 tissue ratio.

## **METHODS**

This cross-sectional analytical prospective study aims to compare the erythrocytes fatty acid profile of allergic sensitized and non-sensitized subject. The research protocol was approved by the bioethics committee of the University of Sonora.

The study population was composed adults of both sexes in a age range of 18 to 55 yr. Subjects were contacted personally by the researchers, and received information about the research protocol. Participants provided informed consent to allow their inclusion in the study, and then completed questionnaires for sociodemographic data collection. The entire population was divided in two separate groups based on the presence or absence of allergic sensitization. Participants were excluded if they were taking supplements with n-6 or n-3 or any other nutritional supplements with unidentified composition, if they were smokers or regular alcohol consumers or if they had metabolic disorders as diabetes or hypothyroidism.

### ***Sampling and Sample Preparation***

Blood drawing was performed by trained professionals. Venous fasting blood samples was extracted in 2 non-additive and 2 EDTA containing vacuum tubes (BD Vacutainer®) properly labeled.

Non-additive blood samples were allowed to clot for at least 1 hour, and then centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. Serum was aliquots segregated into two appropriately labeled crio-tubes: the first one was used for assessment of biochemical parameters with commercially available kits, and the second one were stored at -20 °C until Phadiatop test (Pharma, Thermo Scientific®) was performed, according to manufacturer's instructions. A whole blood tube was centrifuged at 3500 rpm for 10 minutes to separate plasma from red blood cells. Plasma was discarded and globular package was placed in well labeled crio-tubes for harvesting at -80°C until the fatty acid profile analyzes were performed (15). The remaining whole blood containing tube was utilized to perform a complete blood count in the automated blood counter Cell-Dyn 1700® followed by manual leukocyte count.

### ***Allergic Sensitization***

Allergic sensitization was defined as a positive result in serum Phadiatop tests. Serum Phadiatop test has high diagnostic sensitivity and specificity (93% and 89% respectively), its highly reproducible, safer and less invasive than the Prick test (8, 16). This ELISA-based test, detects the presence of specific serum IgE against common allergens.

### ***Fatty Acid Status Markers***

Five hundred microliters of red blood cells were placed in screw cap test tubes containing 2 mL of hexane and 2 mL of boron three fluoride. The reaction tubes were vortex mixed for 30 seconds, and putted on a hot water bat at 100°C for 15 minutes. After that, test tubes were cooled to room temperature and 2 mL of distilled water were added, vortex mixed and centrifuged at 3000 rpm for 3

minutes. Upper organic layer were placed in containers, dried under nitrogen flux and stored at -20°C until CG analysis (15).

Fatty acid signals in the chromatogram were identified comparing its retention time with an analytical standard (Supelco ® 37 Component FAME mix, Sigma-Aldrich). Quantities of each individual fatty acid were expressed as a percentage of total fatty acids in the sample (%w). As a marker of the main classes of fatty acids in sample we have calculated: percentage of saturated fatty acids (%SFA), percentage of unsaturated fatty acids (%UFA), and percentage of PUFA (%PUFA) and the percentage of highly unsaturated fatty acids. As markers of n-3 PUFA status we have determined: n-3 index, LA to ALA, AA to EPA, and n-6 to n-3 ratios, as described elsewhere (15).

### ***Statistical Analysis***

The results were analyzed using SPSS 20 software package, (SPSS Inc., Chicago USA). Data was summarized using measures of central tendency for quantitative variables. Qualitative variables are summarized as frequencies (percentage) with respect to the general population or to each of the groups. The non-parametric Mann-Whitney U test was used to evaluate differences between groups.

## **RESULTS**

The current study started with 86 volunteers. 20 were excluded because of the inclusion and exclusion criteria. Additionally, a volunteer decided to leave the study for personal reasons, leading to 65 adults in the study population, all of them inhabitants of the city of Hermosillo, Sonora. The average age of the population was 30 years. Most of the individuals, 63% were female. The mean age by sex was 28 years for men and 31 for women. The total socio-demographic characteristics of the population are summarized in Table I.

Biochemical analysis and blood count were performed to evaluate the general health status of the individuals, and based on the results of this analysis and the

inclusion and exclusion criteria established for each group, the participants were selected. None of individuals have scores outside the normal range. Therefore, the selected population is considered to be "apparently healthy". Laboratory data is shown in figure 2.

40% of the study population was allergic sensitized. The prevalence of allergic sensitization found in the present study is consistent with the prevalence reported globally (3). Although allergic sensitization is not considered a disease, it is the main risk factor for the development of clinical manifestations of allergy (1).

As shown in Table 2, the only statistically significant difference in laboratory results from the study groups were: eosinophil counts ( $180 \pm 37$  and  $130 \pm 16$ ,  $p = 0.03$ ), and segmented neutrophil counts ( $3297 \pm 523$  and  $2119 \pm 151$ ). This finding is consistent with knowledge about the mechanisms of allergic diseases, as it is known that high numbers of eosinophils and sometimes neutrophils are common in allergic patients (1).

Table III shows the comparison of the fatty acid parameters calculated from the fatty acid profile.

## **DISCUSSION**

Sensitized individuals had a higher La to ALA ratio than non-sensitized individuals (41.02 and 36.49, respectively,  $p = 0.04$ ). This is relevant because it is consistent with the fatty acids hypothesis, proposed by Black and Sharpe in 1997 (6, 7). The LA to ALA ratio indicates that sensitized individuals consume higher amounts of LA compared to non-sensitized individuals. This is because LA comes only from food sources, such as vegetable oils and fast foods (11).

A high LA diet implies that it accumulates in large amounts in tissue stores (10), as observed in the subjects of both study groups, which have a high percentage of LA in their erythrocytes. This causes a decrease in the formation of EPA and DHA from ALA (17). The dysfunction is such that ingested ALA is almost

exclusively deferred to  $\beta$ -oxidation, resulting in low levels of n-3 fatty acids in general and ALA in particular (13). This effect is consistent with the results of the study, since the subjects presented a high proportion of LA and a very low proportion of ALA.

It is thought that the main mechanism through which LA contributes to the pathogenesis of allergy is: 1) increasing the production of AA acid, which triggers its accumulation in cellular deposits, and 2) the transformation of endogenous AA into eicosanoids pro Allergens, such as PGE2 and LTC4, which participate in the induction of isotype change to IgE and in the differentiation of effector cells such as eosinophils and mast cells (7). Although the levels of PGE2 and LTC4 in patients were not quantified in the present study, the results of the Phadiatop® allergic sensitization test and the peripheral blood eosinophil count of the sensitized individuals were consistent with the aforementioned mechanisms, since the sensitized individuals showed higher numbers of eosinophils in peripheral blood, although without showing eosinophilia in any case.

In the present study, the prevalence of allergic sensitization was 40%, which is consistent with the overall prevalence of allergic diseases estimated by the World Organization of Allergies (WAO). No differences were found between the fatty acid profile of sensitized and non-sensitized individuals, both groups presenting a serious imbalance between n-6 and n-3 fatty acids. However, the proportion of LA to ALA in erythrocytes of sensitized individuals was higher than that of non-sensitized individuals. This finding agrees with the proposed fatty acid hypothesis of Black and Sharpe, which postulates that the increase in the tissue ratio of LA may increase the risk of developing allergy. We recommended increasing the number of study subjects, to improve statistical power, and to be able to extrapolate the results of the study at the population level.

## **ACKNOWLEDGMENTS/GRANT SUPPORT**

To the Division of Biological Sciences and Health, and to CONACYT, for the economic support for carrying out the present research work. To PhD. Rocío Sugich-Miranda and PhD. Lourdes Aldana-Madrid, for providing the necessary reagents for the biochemical evaluations.

## REFERENCES

1. Fajt ML, Wenzel SE. Asthma phenotypes and the use of biologic medications in asthma and allergic disease: The next steps toward personalized care. *J Allergy Clin Immunol*. 2015; 135(2):299-310.
2. van den Elsen LWJ, Nusse Y, Balvers M, Redegeld FA, Knol EF, Garssen J, et al. n-3 Long-chain PUFA reduce allergy-related mediator release by human mast cells in vitro via inhibition of reactive oxygen species. *Brit J of Nut*. 2013;109; 1821–31.
3. Pawankar R; Canonica GW; Holgate ST; Lockey RF. Libro blanco sobre alergias de la WAO. 2011. [<http://www.worldallergy.org/>]
4. Linneberg A. The increase in allergy and extended challenges. *Allergy*. 2011; 66(95):3.
5. [Rutkowski K, Sowa P, Rutkowska-Talipska J, Sulkowski S, Rutkowski R. Allergic diseases: the price of civilisational progress. \*Postępy Dermatologii i Alergologii\*. 2014; 2: 77-83.](#)
6. Black PN, Sharpe S (1997). Dietary fat and asthma: is there a connection? *Eur Respir J*. 1997; 10(1):6-12.
7. Shek LP, Chong MF-F, Lim JY, Soh S-E, Chong Y-S. Role of Dietary Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids in Infant Allergies and Respiratory Diseases. *Clin and Develop Immunol*. 2012; 2012:1-8.
8. Furuholm C, Warstedt K, Fagera M, Fälth-Magnusson K, Larsson J, Fredriksson M, et al. Allergic disease in infants up to 2 years of age in

relation to plasma omega-3 fatty acids and maternal fish oil supplementation in pregnancy and lactation. *Pediatr Allergy and Immunol.* 2012; 22:1-11.

9. Patterson E, Wall R, Fitzgerald GF, Ross RP, Stanton C. Health Implications of High Dietary Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids. *J Nut and Met.* 2012; 2012:1-15.
10. Chilton FH, Murphy RC, Wilson BA, Sergeant S, Ainsworth H, Seeds MC, et al. Diet-Gene Interactions and PUFA Metabolism: A Potential Contributor to Health Disparities and Human Diseases. *Nutrients.* 2014;6; 1993-2022.
11. Orzavova J, Misurcova L, Ambrozova JV, Vicha R, Mlcek J. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. *Int J Mol Sci.* 2015; 16: 12871-90.
12. Bosma-den Boer MM, Wetten ML, Pruijboom L. Chronic inflammatory diseases are stimulated by current lifestyle: how diet, stress levels and medication prevent our body from recovering. *Nut & Met* 2012, 9:32.
13. Sears B and Ricordi C. Anti-inflammatory nutrition as a pharmacological approach to treat obesity. *J Obes.* 2011; 2011.
14. MacLean E, Madsen N, Vliagoftis H, Field C, Cameron L. n-3 Fatty acids inhibit transcription of human IL-13: implications for development of T helper type 2 immune responses. *Br J Nut.* 2013;109; 990–1000.
15. Potalla JV, Espeland MA, Polreis J, Robinson J, Harris WS. Correcting the effects of -20 °C storage and aliquot size on erythrocyte fatty acid content in the Women's health Initiative. *Lipids Vol.* 47; 835-846. *AOCS* 2012.

16. Sandeep T, Roopakala MS, Wilma Delphine Silvia CR, Chandrashekara S, Rao M. Evaluation of serum immunoglobulin E levels in bronchial asthma. Lung India. 2010; 27(3):1-3.
17. Kaur N, Chugh V, Gupta AK. Essential fatty acids as functional components of foods- a review. J Food Sci Technol. 2014; 51(10):2289–2303.

**Table 1. Sociodemographic data**

	<b>n</b>	<b>65</b>
Sex m[f]		24(41)
Age		30 (18-55)
Ethnic group		
Mestizo		89% (58)
Caucasian		11% (7)
Place of birth		
Sonora		81% (54)
Sinaloa		3% (2)
Durango		2% (1)
Puebla		2% (1)
Baja California		2% (1)
DF		2% (1)
Monterey		2% (1)
USA		6% (4)
Area of residence		
Urban		97% (63)
Suburban		3% (2)
Scholar level		
7 to 12 years		22% (14)
> 13 years		78% (51)
Occupation		
Student		45% (31)
Professional		31% (20)
Employee		9% (6)
Housewife		5% (3)
Teaching		2% (1)
Builder		2% (1)
Worker		2% (1)
Merchant		2% (1)
Idle		2% (1)
Socioeconomic level		
High		8% (5)
Average		87% (57)
Low		5% (3)

**Table 2. Laboratory parameter**

	Sensitized (n=26)	Non-sensitized (n=39)	<i>p</i>
Glucose (mg/dL)	84 ± 7.5	88±7.4	0.598
Urea (mg/dL)	26.4 ± 4.4	23.1±5.4	0.375
Uric acid (mg/dL)	4.2 ± 2.0	3.53±1.0	0.628
Creatinin (mg/dL)	0.9 ± 0.25	0.7±0.2	0.439
Cholesterol (mg/dL)	138 ± 18.0	149±32	0.421
Triglicerids (mg/dL)	74 ± 12.6	84±62	0.381
Erithrocytes (M/μL)	4.78 ± 0.5	4.76±0.4	0.916
Hemoglobin (g/dL)	13.7 ± 1.5	14.1±1.7	0.618
Hematocrit (%)	42.8 ± 4.0	44±4.6	0.547
VCM (fL)	88.6 ± 3.56	92.6±3.7	0.728
HCM (g/dL)	32 ± 1.04	31.9±0.8	0.643
RDW (%)	13 ± 0.4	13.4±0.6	0.493
Leukocytes (K/μL)	5.4 ± 2.0	4.37±0.4	0.283
Basophyls	54 ± 20	45±38	0.317
Eosinophyls	180 ± 37	130±16	0.03
Neutrphyls	3297 ± 523	2119±151	0.02
Linfocytes	1772 ± 722	1498±391	0.355
Monocytes	350 ± 127	304±74	0.237
Plaquetas	239 ± 103	257±30	0.862
VPM	9.8 ± 1.3	9.5±0.6	0.741

VCM: medium corpuscular volume, HCM: mean corpuscular hemoglobin, VPM: mean platelet volume.

**Table 3. Fatty acid biomarkers**

	Group		<i>p</i>
	Non-sensitized	Sensitized	
% SFA	44.23	43.12	0.239
% MUFA	16.27	15.43	0.345
% PUFA	39.67	41.45	0.284
% HUFA	25.02	26.33	0.306
% n-6	30.41	30.94	0.627
% n-3	9.27	10.52	0.198
LA to ALA	36.49	41.02	0.04
AA to EPA	4.42	4.16	0.266
N-3 index	7.04	8.09	0.201
n-6 to n-3	3.43	3.06	0.243

ALA, alfa-linolenic acid; AA; arachidonic acid; EPA, eicosapentaenoic acid; HUFA, highly unsaturated fatty acids; LA, linoleic acid; MUFA, monounsaturated fatty acids; SFA, saturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids.