

ORIGINAL

Análisis de la composición de ácido araquidónico y ácidos grasos omega-3 en plasma, membrana eritrocitaria y células inmunitarias de pacientes con cirrosis[☆]

Laura Chamorro López^a, Javier Martínez González^b, Ana María García Cano^a,
Rebeca Busto Durán^{c,e}, Agustín Albillos Martínez^{b,d,e} y Óscar Pastor Rojo^{a,e,*}

^a Servicio de Bioquímica Clínica, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

^b Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

^c Servicio de Bioquímica-Investigación, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

^d Departamento de Medicina, Universidad de Alcalá de Henares, Madrid, España

^e Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, España

Recibido el 29 de febrero de 2012; aceptado el 28 de mayo de 2012

Disponibile en Internet el 24 de julio de 2012

PALABRAS CLAVE

Ácido araquidónico;
Ácidos grasos;
Cirrosis;
Cromatografía
de gases

Resumen

Introducción y objetivo: La participación de mediadores lipídicos derivados del ácido araquidónico (AA) en la lesión hepatocelular de la cirrosis y su modulación por ácidos grasos omega-3 como los ácidos docosahexaenoico (DHA) y eicosapentaenoico (EPA) es un tema de interés creciente. El contenido de AA, EPA y DHA puede ser importante para explicar, entre otras funciones, el tono vasoconstrictor del hígado y la capacidad funcional (fagocitosis, producción de ROS) de las células inmunitarias observada en la cirrosis. El objetivo del trabajo fue estudiar las alteraciones en la composición de AA, DHA y EPA en plasma, membrana eritrocitaria y células inmunitarias de sangre periférica en pacientes con cirrosis y establecer su relación con el deterioro de la función hepática.

Pacientes y métodos: Se analizó la composición de ácidos grasos de 42 pacientes con cirrosis clasificados según Child-Pugh y 10 controles sanos en plasma, membrana eritrocitaria y células mononucleares (PMBC) y polimorfonucleares (PMN) de sangre periférica por cromatografía de gases con detección por masas.

Resultados y conclusiones: 1) Los cirróticos presentan un descenso significativo en los porcentajes de AA, EPA y DHA en plasma y un descenso significativo de AA en membrana eritrocitaria. 2) El contenido de AA en plasma y en membrana eritrocitaria correlaciona con el deterioro en la función hepática (según Child-Pugh) y no depende de un deficitario aporte nutricional. 3) La composición en AA y DHA está alterada en los PBMC de cirróticos, lo que pudiera tener importancia en la funcionalidad de las células inmunitarias de estos enfermos.

© 2012 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

[☆] Este trabajo corresponde a una comunicación científica presentada y premiada con accésit en el V Congreso Nacional del Laboratorio Clínico celebrado en Málaga del 9 al 11 de noviembre de 2011.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: opastor@ono.com (Ó. Pastor Rojo).

KEYWORDS

Arachidonic acid;
Fatty acids;
Cirrhosis;
Gas chromatography

Analysis of composition of arachidonic acid and fatty acids omega-3 in plasma, erythrocyte membrane and immune cells in patients with cirrhosis

Abstract

Introduction and objective: The involvement of lipid mediators derived from arachidonic acid (AA) in cirrhosis hepatocellular injury and its modulation by omega-3 fatty acids, such as docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic (EPA) is a topic of growing interest. The content of AA, EPA and DHA may be important to explain, among other things, the vasoconstrictor tone of liver and functional capacity (phagocytosis, ROS production) of immune cells observed in cirrhosis. The objective was to study alterations in the composition of AA, DHA and EPA in plasma, erythrocyte membranes and peripheral blood immune cells in patients with cirrhosis and determine their relationship with liver function impairment.

Patients and methods: We analyzed the fatty acid composition of 42 patients with cirrhosis using the Child-Pugh classification, and 10 healthy controls in plasma, erythrocyte membrane and mononuclear cells (PBMCs) and polymorphonuclear (PMN) from peripheral blood using gas chromatography with mass detection.

Results and conclusions: 1) Patients with cirrhosis showed significant decreases in the percentages of AA in plasma and erythrocyte membrane, as well as EPA and DHA in plasma. 2) AA content in plasma and erythrocyte membrane correlates with impaired liver function (Child scale) and it does not depend on a nutritional deficit. 3) AA and DHA composition varies also in PBMC (lymphocytes and monocytes) of cirrhosis, which may affect immune function of these cells.

© 2012 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El hígado es el órgano fundamental en la regulación del metabolismo lipídico y en la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). El ácido araquidónico (AA, C20:4 n-6) es un PUFA de la serie omega-6 que se sintetiza en el organismo a partir del ácido linoleico (AL, C18:2 n-6). El AA participa como metabolito esencial precursor de la síntesis de eicosanoides¹. Su principal reservorio funcional es la membrana celular donde se incorpora a triglicéridos, ésteres de colesterol y mayoritariamente a glicerofosfolípidos^{2,3}. En respuesta a diferentes estímulos, el AA es liberado al citosol por la fosfolipasa A₂⁴ y rápidamente metabolizado por ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2) y lipooxigenasas (5-LOX, 12-LOX, 15-LOX)^{5,6} produciendo múltiples eicosanoides como prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos, y leucotrienos que participan en la respuesta inflamatoria, la agregación plaquetaria y la regulación del tono vasoconstrictor en función del tejido y tipo celular^{7,8}.

Los principales PUFA de la serie omega-3 son el ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5 n-3) y el ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6 n-3). Se sintetizan de forma limitada en el organismo a partir del α -linolénico (ALA, C18:3 n-3). Al igual que el AA pueden ser almacenados en los glicerofosfolípidos de las membranas celulares y su importancia radica en que pueden competir con el AA por enzimas metabólicas comunes modulando la producción de eicosanoides⁹.

El deterioro en la función hepática producida en la cirrosis se ha relacionado con cambios en el perfil de ácidos grasos en plasma y en membrana del eritrocito^{10,11}, con aumentos en la composición de ácidos grasos saturados y descensos en monoinsaturados, y principalmente, con descensos en el contenido de AA¹².

En la [figura 1](#) se representan los posibles efectos mediados por el AA, y modulados por los PUFA n-3, en hígado,

riñón, plaquetas y células del sistema inmunológico. La biodisponibilidad de AA en estos tejidos se asocia con el aumento del tono vasoconstrictor en hígado y riñón, así como con la disfunción inmunitaria y los defectos en la coagulación observados en la cirrosis. Existen muchos estudios que relacionan la producción de eicosanoides con patologías presentes en la cirrosis. Algunos autores han relacionado la cirrosis con un estado hipercatabólico que aumenta la síntesis hepática de eicosanoides proinflamatorios y vasoconstrictores¹³. Otros, relacionan déficits de AA con descensos en la producción renal de prostaglandinas vasodilatadoras en el síndrome hepatorenal¹⁴.

Por otra parte, están en revisión las alteraciones en la hemostasia primaria, agregación plaquetaria y la coagulación de los pacientes cirróticos^{15,16}. En las plaquetas, el AA es precursor de eicosanoides proagregantes, como el tromboxano A₂ que es sintetizado por acción de la COX-1, y de isoprostanos que son generados por oxidación no enzimática del AA por especies reactivas de oxígeno (ROS) liberadas por la actividad NADPH-oxidasas plaquetaria.

Así mismo, la cirrosis también se asocia con un fracaso en la capacidad fagocitaria del sistema inmunitario y retículo-endotelial hepático. Los cirróticos presentan mayor riesgo a padecer infecciones bacterianas. En células del sistema inmunitario a partir del AA se produce leucotrieno B₄ (LTB₄), un potente quimioatrayente, inductor de adhesión celular y de la liberación de enzimas hidrolíticas¹⁷ y que es esencial para la activación de NADPH-oxidasas citosólicas del neutrófilo y la liberación de ROS¹⁸. Resulta plausible que anomalías en ácidos grasos puedan influir en la disfunción de las células inmunitarias observada en pacientes cirróticos¹⁹⁻²¹. El sistema retículo-endotelial está encargado en último término del aclaramiento de bacterias y antígenos como el lipopolisacárido bacteriano (LPS) mediante los macrófagos residentes o las células Kupffer. Estas células

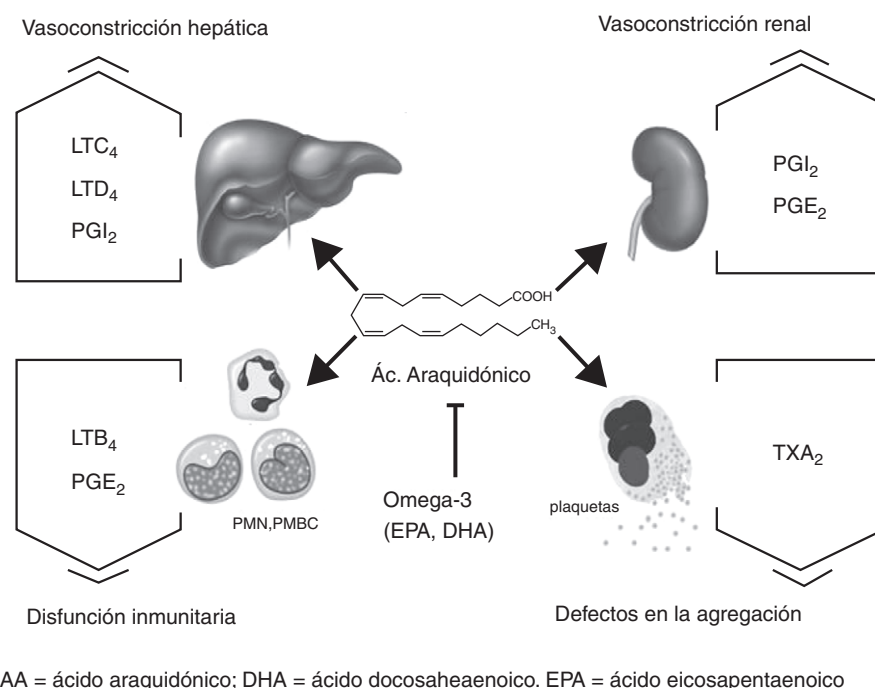


Figura 1 Efectos mediados por el AA en células y tejidos en la cirrosis. El AA es metabolizado por la vía de la COX y LOX en diferentes eicosanoides dependiendo del tejido: CysLT (LTC₄, LTD₄), prostaglandinas (PGI₂), prostaglandinas (PGE₂) y leucotrienos (LTB₄) y tromboxanos (TXA₂) y leucotrienos (LTB₄). La biodisponibilidad de AA en estos tejidos se asocia con el aumento del tono vasoconstrictor en hígado y riñón, así como a la disfunción inmunitaria y a los defectos en la coagulación observados en la cirrosis. Los ácidos grasos omega-3 (EPA y DHA) y sus metabolitos contrarrestan la acción del AA.

cuando entran en contacto con el LPS producen cisteinil leucotrienos (CysLT) que contribuyen al tono vasoconstrictor en el hígado cirrótico, como lo demuestra recientemente, que el tratamiento con Montelukast[®], antagonista de los receptores de CysLT, reduce la hipertensión portal en modelos animales²². Otras sustancias como el LTB₄ y diversas prostaglandinas (PGE₂, PGD₂, PGF₂, PGI₂) relacionadas con la liberación de TNF- α , óxido nítrico y ROS en el hígado¹³ también son liberadas por los macrófagos en contacto con el LPS bacteriano. Aunque la célula de mayor trascendencia funcional sea el macrófago hepático, la evidente dificultad para su estudio en humanos, ha fomentado el estudio de células mononucleadas (PMBC) como modelo para examinar la función del macrófago en la cirrosis.

Objetivo

El objetivo de este trabajo fue estudiar la composición de AA, DHA y EPA en células mononucleadas «Peripheral Mononuclear Blood Cells» (monocitos y linfocitos, PMBC) y Células Polimorfonucleadas «Polymorphonuclear Blood Cells» (granulocitos, PMN) de sangre periférica en pacientes con cirrosis. La composición de las células, se correlacionó con la obtenida en el plasma, reflejo del metabolismo hepático, y en la membrana eritrocitaria, marcador de estado global de ácidos grasos en el organismo²³. Posteriormente, se relacionó la composición de estos ácidos grasos con el grado de deterioro de la función hepática de los pacientes con cirrosis.

Material y métodos

Realizado en la Sección de Cromatografía del Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Ramón y Cajal durante un periodo de 2 años y con la colaboración del Servicio de Gastroenterología, se seleccionaron un total de 42 pacientes con cirrosis descompensada de diferentes etiologías (alcohólica, virus hepatitis B y C) y diferentes grados de deterioro de la función hepática clasificados según la escala Child-Pugh. Se incluyeron 4 pacientes Child A, 19 pacientes Child B y 19 pacientes Child C. Todos los pacientes con cirrosis mostraban un buen estado nutricional y presentaban un índice de masa corporal (IMC) superior a 18,5 kg/m². Además, se seleccionaron 10 controles sanos.

Se obtuvieron para controles y pacientes 4 tipos de muestras: plasma, membranas eritrocitarias, PMBC y células PMN.

Obtención de plasma y membranas eritrocitarias: se partió de 3-5 mL de sangre anticoagulada con EDTA-K₃ que se centrifugó a 3.000 rpm durante 15 min y se separó la fase superior correspondiente al plasma. Las membranas eritrocitarias se obtuvieron tras un lavado con PBS y posterior lisado por choque osmótico con agua destilada fría. El lisado se centrifugó a 20.000 g durante 20 min obteniéndose el pellet correspondiente a las membranas de eritrocitos que se disolvió en PBS y se almacenó a -80 °C para su posterior procesamiento.

Aislamiento de células mononucleares (PMBC) y polimorfonucleares (PMN): el aislamiento se realizó utilizando el método descrito por Boyum et al.²⁴. El método se basa en la diferente flotabilidad de cada tipo celular en un

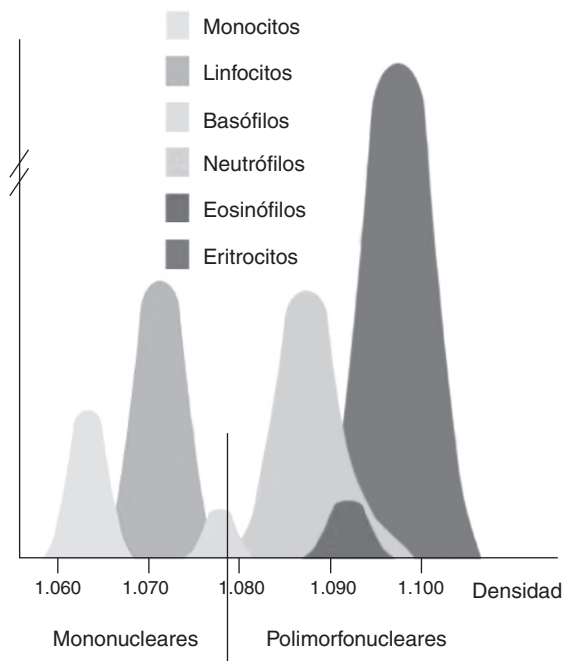


Figura 2 Poblaciones celulares en función de su densidad. Las células mononucleares (monocitos y linfocitos, PMBC) tienen menor densidad que las polimorfonucleares (granulocitos, PMN) y los eritrocitos.

gradiente de densidad como se indica en la figura 2. La sangre anticoagulada con heparina (8 mL) se diluyó con PBS y se depositó sobre el mismo volumen de Lymphoprep (densidad 1,077 g/mL, Axis-Shield). Tras centrifugación a 1.900 rpm durante 40 min, los PMBC se aislaron de la interfase. Para

el aislamiento de los PMN se descartó el plasma y el Lymphoprep. Se procedió a eliminar los eritrocitos contaminantes mediante sedimentación con dextrano al 6% y con solución de lisis. Aislados ambos tipos celulares, se resuspendieron en PBS y se comprobó su viabilidad, integridad y efectividad de la separación mediante un hemocitómetro como se muestra en la figura 3. Posteriormente se lisaron las células en KOH al 10% y se almacenaron a -80°C hasta su procesamiento.

Extracción de lípidos: para proceder al análisis de ácidos grasos en las muestras de células inmunitarias (PMBC y PMN) previamente se realizó una extracción de lípidos según el método de Folch²⁵. La extracción se realizó utilizando 2 mL de cloriformo/metanol (2:1) y 500 μL de muestra para una proporción de 1:4 y 500 μL de muestra durante 2 horas en cámara fría. En las muestras de plasma y membrana eritrocitaria no fue necesario realizar extracción lipídica.

Análisis de AA, EPA y DHA por cromatografía de gases y detección por espectroscopía de masas: el análisis de ácidos grasos se realizó basándose en el método descrito por Lepage y Roy²⁶. Se partió de 100 μL de muestra (plasma, extracto de membrana eritrocitaria, o extractos lipídicos de las células inmunitarias), a los que se añadieron 50 μL de patrón interno (C17:0 y C23:0, 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ cada uno). Seguidamente se transesterificó con cloruro de acetilo en metanol (1,75 mL de metanol y 100 μL de cloruro de acetilo por muestra) durante 18 horas a 50°C . Los metilésteres de los ácidos grasos (FAME) obtenidos se analizaron por cromatografía de gases con detección por espectrometría de masas. La columna empleada fue una HP-INNOWAX[®] (30 m, 0,25 μm , 0,1 mm). La temperatura del inyector se fijó a 250°C y las muestras se inyectaron en modo splitless. Se inyectó 1 μL de muestra en los PMN y PMBC y 0,2 μL de muestra para el plasma. El horno del cromatógrafo de gases operó

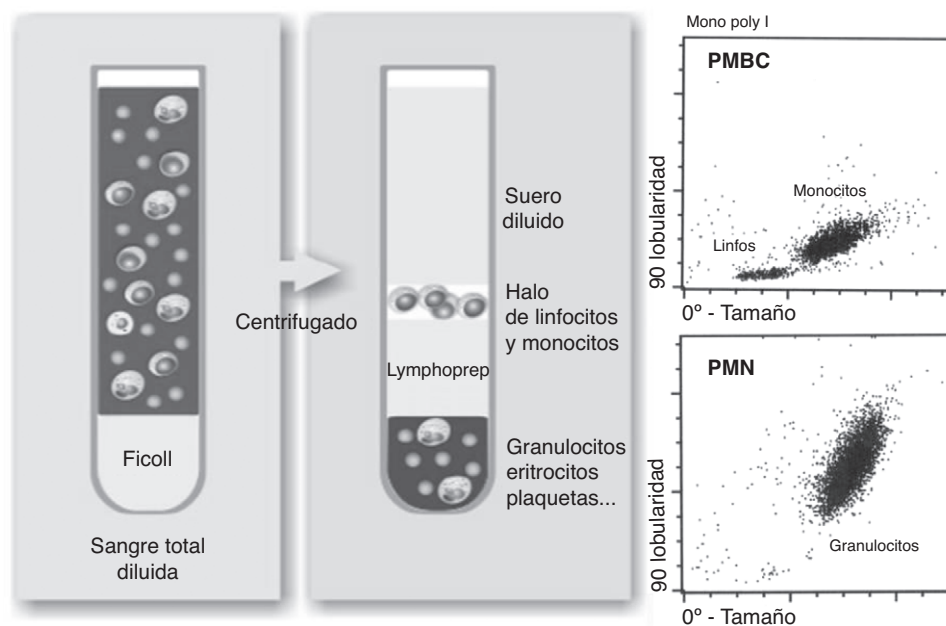


Figura 3 Aislamiento de PMBC mediante gradiente de Lymphoprep. Se deposita la sangre diluida sobre el Lymphoprep y se centrifuga. Los linfocitos y monocitos (PMBC) se aíslan en la interfase entre plasma y Lymphoprep. La fase inferior contiene los granulocitos (PMN) y eritrocitos. A la derecha se muestran las gráficas de citometría procedentes del aislamiento de PMBC y PMN.

a una temperatura inicial de 50 °C hasta 200 °C a 25 °C/min, seguidamente se incrementó la temperatura hasta 230 °C a 1,5 °C/min y se mantuvo durante 8 min. El tiempo total de cada inyección fue de 35 min. El espectrómetro de masas operó en modo SIM (*selective ion monitoring*), con un dwell time de 25 msec. Se seleccionó un ión cuantificador y 3 iones cualificadores (*quant*, q1, q2, q3) para C17:0, C23:0 y C20:0 (74, 55, 87, 143), para AA y EPA (79, 180, 150, 108) y para DHA (79, 166, 150, 108). La estabilidad del tiempo de retención se fijó utilizando bloqueo del tiempo de retención (RTL) respecto al pico del ácido araquídico (C20:0).

La concentración de AA, EPA y DHA se obtuvo tras integración de las señales correspondientes a los iones cuantificadores para estas sustancias e interpolación del valor de las áreas sobre las curvas de calibración a 6 niveles (100 µg, 50 µg, 25 µg, 12,5 µg, 6,25 µg y 3.125 µg) construidas a partir de un patrón de concentración conocida (GLC-462, NuCheck-INC) empleando el método del patrón interno. La composición porcentual de AA, EPA y DHA en cada muestra se realizó dividiendo la concentración de cada ácido graso por la concentración de ácidos grasos totales en cada muestra.

Resultados

En la [figura 4](#) se muestra un cromatograma como inyección representativa con la composición total de ácidos grasos en membrana eritrocitaria de uno de los pacientes estudiados. Se indican mediante flechas los picos correspondientes a AA, EPA y DHA. Cromatogramas similares se obtuvieron en las muestras de plasma, PMBC y PMN.

Los resultados de nuestro estudio ponen de manifiesto la presencia de anomalías en la composición de ácidos grasos en el plasma y en la membrana eritrocitaria de pacientes con cirrosis descompensada. La [tabla 1](#) muestra los resultados de composición porcentual obtenidos de AA, DHA y EPA en las muestras de plasma, membrana eritrocitaria y células inmunitarias (PMBC y PMN) en controles y en pacientes cirróticos

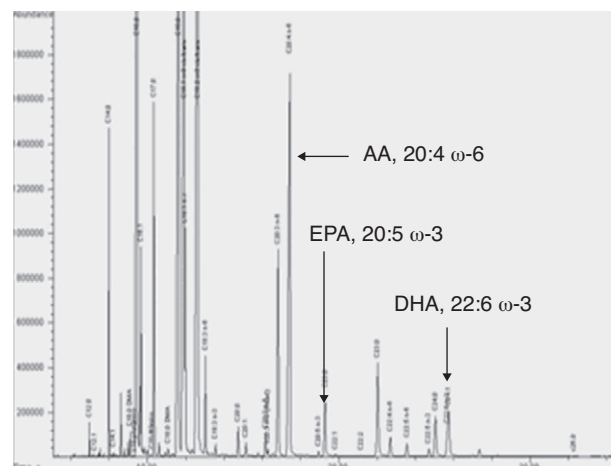


Figura 4 Cromatograma de ácidos grasos de membrana eritrocitaria. Se muestra una inyección representativa con la composición total de ácidos grasos en la membrana eritrocitaria de uno de los pacientes estudiados. Se indica con flechas los picos correspondientes a AA, EPA y DHA. Cromatogramas similares se obtuvieron en las muestras de plasma, PMBC y PMN.

clasificados según Child-Pugh. Los resultados se expresan como la media \pm la desviación estándar y entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas en cada caso. También se muestra el grado de significación obtenido tras el análisis ANOVA. Se marcan en **negrita** los resultados estadísticamente significativos. Como puede observarse en la [tabla 1](#), en cirróticos se evidencia un descenso significativo en la composición porcentual de AA, DHA y EPA en plasma. Así mismo, se aprecia un descenso significativo de AA en membrana eritrocitaria y además se observaron diferencias significativas en la composición de AA y DHA en las PMBC. Sin embargo, para los granulocitos (PMN) no observamos cambios significativos en la composición porcentual de estos ácidos grasos.

Tabla 1 Composición porcentual de AA, EPA Y DHA en controles y pacientes cirróticos. Los resultados se expresan como media porcentual \pm desviación estándar (n.º de muestras). Se destacan los resultados estadísticamente significativos

	Control	Child A	Child B	Child C	Anova
AA					
Plasma (%)	8,52 \pm 1,6 (10)	7,21 \pm 3,13 (4)	5,23 \pm 1,62 (17)	4,72 \pm 1,4 (19)	0,000
Eritrocito (%)	18,31 \pm 2,79 (9)	15,14 \pm 1,31 (4)	15,05 \pm 3,09 (19)	14,58 \pm 2,93 (15)	0,023
PMN (%)	6,53 \pm 1,39 (9)	4,2 \pm 3,27 (2)	5,51 \pm 2,25 (14)	4,82 \pm 1,62 (10)	0,059
PMBC (%)	10,34 \pm 2,92 (9)	4,77 \pm (2)	11,35 \pm 3,67 (14)	7,2 \pm 3,62 (10)	0,026
EPA					
Plasma (%)	0,53 \pm 0,69 (10)	0,31 \pm 0,13 (4)	0,31 \pm 0,29 (17)	0,28 \pm 0,3 (19)	0,042
Eritrocito (%)	0,31 \pm 0,13 (9)	0,34 \pm 0,16 (4)	0,32 \pm 0,14 (19)	0,33 \pm 0,13 (15)	NS
PMN (%)	0,07 \pm 0,1 (9)	0,08 \pm 0,05 (2)	0,09 \pm 0,05 (14)	0,08 \pm 0,03 (10)	NS
PMBC (%)	0,13 \pm 0,2 (9)	0,07 \pm (2)	0,13 \pm 0,09 (14)	0,08 \pm 0,04 (10)	NS
DHA					
Plasma (%)	2,02 \pm 0,71 (10)	1,45 \pm 0,73 (4)	1,52 \pm 0,55 (17)	1,29 \pm 0,48 (19)	0,022
Eritrocito (%)	5,39 \pm 0,88 (9)	5,29 \pm 1,15 (4)	4,92 \pm 1 (19)	5,23 \pm 0,94 (15)	NS
PMN (%)	0,53 \pm 0,14 (9)	0,94 \pm 0,58 (2)	1,36 \pm 1,02 (14)	0,96 \pm 0,31 (10)	NS
PMBC (%)	0,96 \pm 0,29 (9)	1,01 \pm (2)	1,98 \pm 0,86 (14)	1,4 \pm 0,72 (10)	0,015

AA: ácido araquidónico; DHA: ácido docosahexaenoico; EPA: ácido eicosapentaenoico; NS: no significativo.

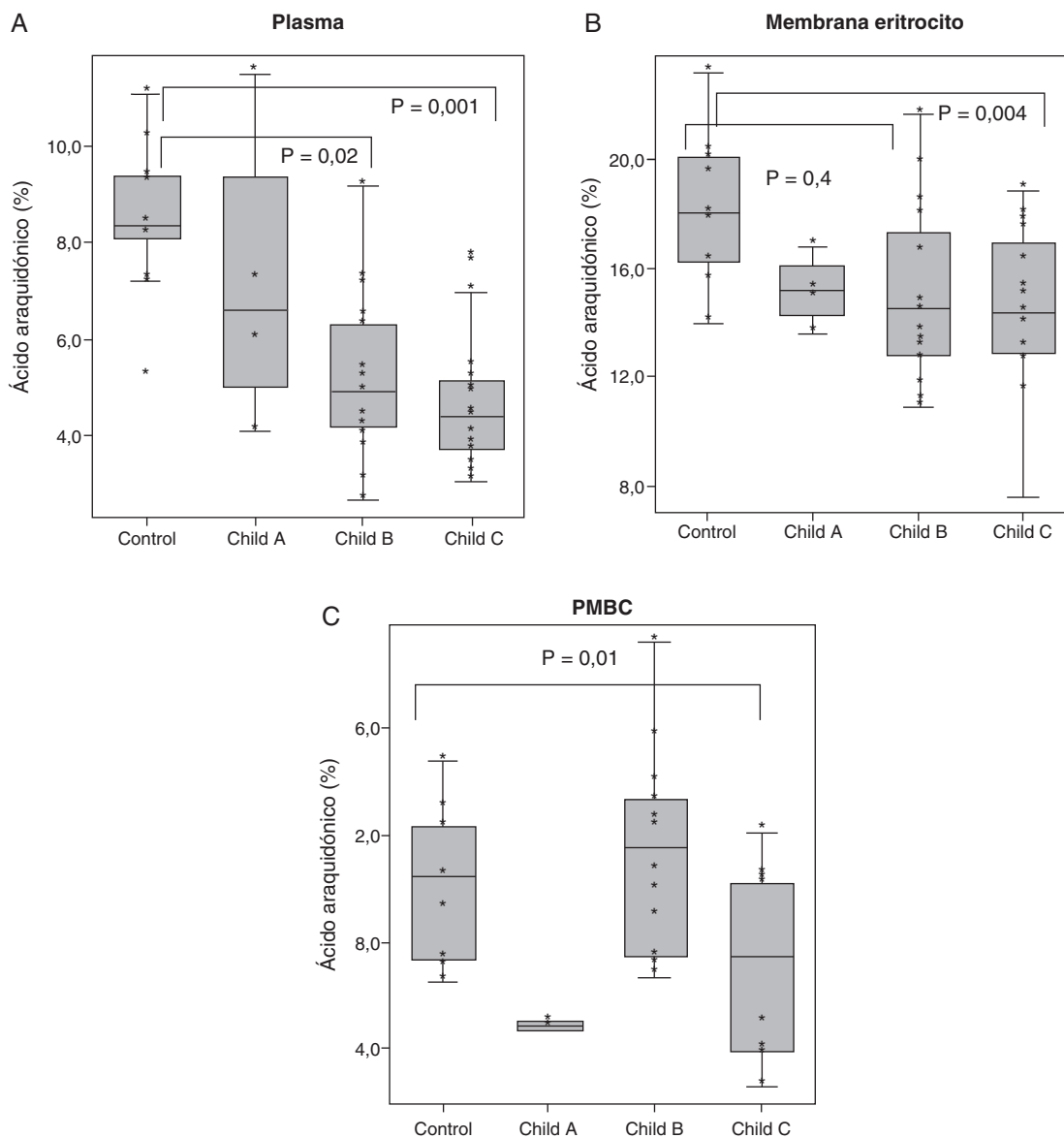


Figura 5 Composición porcentual de AA, en plasma, membrana eritrocitaria y células mononucleadas (PMBC). Se representan los box-plot de la composición porcentual (%) de AA en controles y cirróticos clasificados según la escala Child. Los valores de significación (P) corresponden a las comparaciones bivariadas tras el ANOVA.

Los resultados correspondientes al AA en plasma, membrana eritrocitaria y PMBC se representan en las gráficas box-plot en la figura 5. Se muestran los valores de significación (p) correspondientes a las comparaciones bivariadas tras el ANOVA. Si comparamos los resultados en controles con cirróticos Child C, se obtuvo una $p = 0,001$ en plasma, $p = 0,04$ en membrana de eritrocito y una $p = 0,01$ en PMBC. Se puede observar, por tanto, como el descenso de AA va siendo más acusado en aquellos pacientes con mayor deterioro de la función hepática.

Discusión

Los resultados obtenidos en nuestro estudio ponen de manifiesto descensos en la composición de ácidos grasos (AA, DHA

y EPA) en el plasma y además de AA en la membrana eritrocitaria de pacientes con cirrosis descompensada. Estos datos corroboran los resultados obtenidos por Cabré et al.¹². Son varias las razones que han sido argumentadas en los últimos años para explicar este descenso. Por un lado, los cirróticos especialmente aquellos de etiología alcohólica, suelen presentar deficiencias nutricionales¹¹. En un estudio en pacientes con hepatopatía crónica se observó un descenso en la dieta que reducía la disponibilidad de ácidos grasos esenciales precursores como AL¹⁷. En otros estudios, el descenso de ácidos grasos se relacionaría con problemas de malabsorción de grasas asociados al descenso en la producción de ácidos biliares²⁷⁻²⁹ o también al déficit en las actividades enzimáticas (elongasa y desaturasa) necesarias para la conversión de AL en AA que en animales cirróticos han resultado

deficitarias³⁰. Además, el intento de normalizar el balance de ácidos grasos en enfermos con cirrosis avanzada mediante administración intravenosa de preparados ricos en precursores como AL y ALA no ha obtenido resultados satisfactorios³¹.

En nuestro estudio, el déficit de AA y ácidos grasos obtenido, no parece deberse a la existencia de un aporte nutricional deficitario ya que se incluyeron pacientes con buen estado nutricional (IMC > 18,5 kg/m²) y con cirrosis de diferentes etiologías (tanto etílica como por virus hepatitis B y C) por lo que podemos deducir que la deficiencia nutricional no parece ser la causa del déficit sino que se encuentra asociada a la funcionalidad hepática de estos enfermos. De hecho, nuestros resultados demuestran que el déficit de AA en plasma y en membrana eritrocitaria correlaciona con el deterioro de la función hepática y que esta deficiencia es más acusada en enfermos con mayor deterioro de la misma. En un estudio anterior, en una serie de 101 pacientes cirróticos se demostró que concentraciones de AA disminuidas relacionaba con la supervivencia de los enfermos¹².

Los resultados obtenidos en las células inmunitarias muestran una disminución significativa en la composición de AA en las PMBC de los pacientes cirróticos. Puesto que no es descartable que la presencia de un déficit de AA en estas células afecte a la producción de LTB₄, la capacidad fagocitaria de las mismas pudiera verse afectada. De hecho, hay estudios que han demostrado que los monocitos de pacientes cirróticos presentan una capacidad fagocitaria disminuida³². Otros estudios, asocian una capacidad de producción de ROS en neutrófilos alterada en los cirróticos, reduciendo su capacidad de respuesta frente a bacterias³³. En nuestro estudio no hemos encontrado diferencias significativas en la composición de ácidos grasos en los granulocitos (PMN) estudiados.

Otro resultado a considerar es la alteración en la composición de DHA en las PMBC en los pacientes cirróticos. Se observa una tendencia a que los cirróticos presenten una mayor composición de DHA que los controles pero no sabemos cuál es la causa, aunque parece que pueda influir en la respuesta inmunitaria.

Los omega-3 están encargados de aumentar la producción de mediadores antiinflamatorios (protectinas y resolvinas) que reducen el estrés oxidativo y el daño necroinflamatorio en el hígado³⁴. La suplementación de ácidos grasos en la cirrosis ha renovado su interés³⁵ y podría ser de relevancia, por tanto, valorar el efecto que sobre los pacientes cirróticos y sobre las células del sistema inmunitario pudieran ejercer futuras intervenciones en el aporte de ácidos grasos omega-3 en pacientes con hepatopatía crónica.

Las conclusiones más relevantes de nuestro estudio son:

- 1) Los cirróticos presentan un descenso significativo en los porcentajes de AA, EPA y DHA en plasma y un descenso significativo de AA en membrana eritrocitaria.
- 2) El contenido de AA en plasma y en membrana eritrocitaria correlaciona con el deterioro en la función hepática (según Child-Pugh) y no depende de un déficit aporte nutricional.
- 3) La composición en AA y DHA está alterada en los PBMC de cirróticos, lo que pudiera tener importancia en la funcionalidad de las células inmunitarias de estos enfermos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Buczynski MW, Dumlao DS, Dennis EA. Thematic Review Series: Proteomics. An integrated omics analysis of eicosanoid biology. *J Lipid Res.* 2009;50:1015–38.
2. Quehenberger O, Dennis EA. The human plasma lipidome. *N Engl J Med.* 2011;365:1812–23.
3. Christie WW. *Lipid Analysis* - third edition. Bridgewater: The Oily Press; 2003. Chapter 1.
4. Burke JE, Dennis EA. Phospholipase A2 structure/function, mechanism, and signaling. *Journal of lipid research.* 2009;50 Suppl.:S237–42.
5. Haeggstrom JZ, Funk CD. Lipoxygenase and leukotriene pathways: biochemistry, biology, and roles in disease. *Chem Rev.* 2011;111:5866–98.
6. Rouzer CA, Marnett LJ. Cyclooxygenases: structural and functional insights. *Journal of lipid research.* 2009;50 Suppl.
7. De Caterina R. n-3 fatty acids in cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 2011;364:2439–50.
8. Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol.* 2005;6:1191–7.
9. Simopoulos AP. Essential PUFAs in health and chronic disease. *Am J Clin Nutr.* 1999;70:S560–9.
10. Johnson SB, Gordon E, McClain C, Low G, Holman RT. Alcoholism polyunsaturated fatty acid patterns of serum lipids in alcoholism and cirrhosis: arachidonic acid deficiency in cirrhosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985;82:1815–8.
11. Sarin SK, Dhingra N, Bansal A, Malhotra S, Guptan RC. Dietary and nutritional abnormalities in alcoholic liver disease: a comparison with chronic alcoholics without liver disease. *Am J Gastroenterol.* 1997;92:777–83.
12. Cabré E, Abad-Lacruz A, Núñez MC, González-Huix F, Fernández-Bañares F, Gil A, et al. The relationship of plasma polyunsaturated fatty acid deficiency with survival in advanced liver cirrhosis: multivariate analysis. *Am J Gastroenterol.* 1993;88:718–22.
13. Clària J, Horrillo R, Martínez-Clemente M, Morán-Salvador E, Titos E, González-Pérez A, et al. Basic mechanisms of hepatocellular injury. Role of inflammatory lipid mediators. *Gastroenterología y hepatología.* 2008;31:682–92.
14. Rimola A, Ginés P, Arroyo V, Camps J, Pérez-Ayuso RM, Quintero E, et al. Urinary excretion of 6-keto-prostaglandin F1 alpha, thromboxane B2 and prostaglandin E2 in cirrhosis with ascites. Relationship to functional renal failure (hepatorenal syndrome). *J Hepatol.* 1986;3:111–7.
15. Tripodi A, Mannucci PM. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med.* 2011;365:147–56.
16. Violi F, Basili S, Raparelli V, Chowdary P, Gatt A, Burroughs AK. Patients with liver cirrhosis suffer from primary haemostatic defects? Fact or fiction? *J Hepatol.* 2011;55:1415–27.
17. Flamand L, Tremblay MJ, Borgeat P. Leukotriene B4 triggers the in vitro and in vivo release of potent antimicrobial agents. *J Immunol (Baltimore, Md: 1950).* 2007;178:8036–45.
18. Hii CS, Ferrante A. Regulation of the NADPH oxidase activity and anti-microbial function of neutrophils by arachidonic acid. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2007;55:99–110.
19. Muñoz L, Albillos A, Nieto M, Reyes E, Lledó L, Monserrat J, et al. Mesenteric Th1 polarization and monocyte TNF-alpha production: First steps to systemic inflammation in rats with cirrhosis. *Hepatology.* 2005;42:411–9.

20. Xing T, Li L, Cao H, Huang J. Altered immune function of monocytes in different stages of patients with acute on chronic liver failure. *Clin Exp Immunol*. 2007;147:184–8.
21. Albillos A, Hera Ad Ade L, Reyes E, Monserrat J, Muñoz L, Nieto M, et al. Tumour necrosis factor- α expression by activated monocytes and altered T-cell homeostasis in ascitic cirrhosis: amelioration with norfloxacin. *J Hepatol*. 2004;40:624–31.
22. Steib CJ, Bilzer M, op den Winkel M, Pfeiler S, Hartmann AC, Hennenberg M, et al. Treatment with the leukotriene inhibitor montelukast for 10 days attenuates portal hypertension in rat liver cirrhosis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2010;51:2086–96.
23. Harris WS. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: a case for omega-3 index as a new risk factor. *Pharmacol Res*. 2007;55:217–23.
24. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1g. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1968;97:77–89.
25. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957;226:497–509.
26. Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res*. 1986;27:114–20.
27. Jimenez G. Síndromes de malabsorción, fisiopatología. *Arch Gastroenterol*. 1975;2:135–59.
28. Cabré E, Hernández-Pérez JM, Fluvà L, Pastor C, Corominas A, Gassull MA. Absorption and transport of dietary long-chain fatty acids in cirrhosis: a stable-isotope-tracing study. *Am J Clin Nutr*. 2005;81:692–701.
29. Nakamura MT, Tang AB, Villanueva J, Halsted CH, Phinney SD. Selective reduction of delta 6 and delta 5 desaturase activities but not reversed by short-term intravenous lipid supplementation. *J Clin Invest*. 1994;93:450–4.
30. Duerksen DR, Nehra V, Palombo JD, Ahmad A, Bistran BR. Essential fatty acid deficiencies in patients with chronic liver disease are not reversed by short-term intravenous lipid supplementation. *Dig Dis Sci*. 1999;44:1342–8.
31. Mookerjee RP, Stadlbauer V, Lidder S, Wright GA, Hodges SJ, Davies NA, et al. Neutrophil dysfunction in alcoholic hepatitis superimposed on cirrhosis is reversible and predicts the outcome. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2007;46:831–40.
32. Tritto G, Bechlis Z, Stadlbauer V, Davies N, Francés R, Shah N, et al. Evidence of neutrophil functional defect despite inflammation in stable cirrhosis. *J Hepatol*. 2011;55:574–81.
33. González-Pérez A, Planagumà A, Gronert K, Miquel R, López-Parra M, Titos E, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) blunts liver injury by conversion to protective lipid mediators: protectin D1 and 17S-hydroxy-DHA. *The FASEB journal*. 2006;20:2537.
34. Lee S, Gura KM, Puder M. Omega-3 fatty acids and liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2007;45:841–5.
35. El-Badry AMM, Graf R, Clavien PAA. Omega 3 - Omega 6: What is right for the liver? *J Hepatol*. 2007;47:718–25.