

32. Salud humana

Relación entre la ingesta de ácidos grasos dietarios y la inflamación de la mucosa bucal

Costantino, Evangelina; Pasqualini, María Eugenia; Actis, Adriana Beatriz

evangelina.costantino@unc.edu.ar; eugepasqual@yahoo.com.ar; adractis@yahoo.com.ar

Facultad de Odontología

Universidad Nacional de Córdoba

Resumen

Objetivo: analizar la concentración salival de interleuquina (IL)-1B, IL-6 y factor de necrosis tumoral α (FNT- α) con relación a la ingesta de ácidos grasos (AG) saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) y sus eicosanoides derivados, índice de masa corporal (IMC) y valor energético total (VET) y correlacionar la ingesta de AG n-3 y n-6 y la inflamación de la mucosa bucal en pacientes con lesión liquenoide bucal (LLB) y carcinoma de células escamosas (CCE). 25 participantes fueron divididos en 3 grupos: G1 (n=8; voluntarios sanos; ambos sexos; 20-39 años de edad), G2 (n=11; LLB) y G3 (n=6; CCE). Se completó una encuesta de frecuencia de consumo alimentario cuali-cuantitativo y los datos fueron procesados mediante Interfood v.1.3. De cada participante se obtuvo una muestra de 5 ml de saliva total no estimulada y se determinó IL-1B, IL-6 y FNT- α (*test ELISA*) y los eicosanoides: ácido hidroxihexadecatienoico (12-HHT), ácido hidroxioctadecaenoico (13-HODE) y ácidos 5- y 12-hidroieicosatetraenoico (5-HETE; 12-HETE) por cromatografía líquida de alta resolución. Se empleó la prueba de Kruskal Wallis y el coeficiente de Spearman ($p < 0.05$). **Resultados:** G2 y G3 presentaron mayor IMC ($p = 0,0020$) y nivel de IL-6 con relación al grupo G1 ($p = 0,0083$). Se observó asociación negativa en G2 entre la ingesta de AG α -linolénico 18:3 n-3 y TNF- α (-0,61; $p = 0,0482$). En G3 se observó una tendencia a la asociación negativa (-0,77; $p = 0,08$) entre IL-1 β y la ingesta de AG docosahexaenoico 22:6 n-3 (ADH) y positiva (0,83; $p = 0,06$) entre AGS y esa citoquina. En G3, se observó una asociación positiva (0,82; $p = 0,04$) entre IL-1 β y 5-HETE. Los AGIP dietarios n-3 reducen la inflamación de la mucosa bucal.

Palabras clave: ácidos grasos dietarios, inflamación, mucosa bucal, cáncer bucal.

Introducción

La inflamación es una respuesta inmune innata, indispensable para la homeostasis del huésped contra patógenos invasores y para la cicatrización de los tejidos (Elinav y col, 2013; Cildir y col, 2013). Existe una fuerte asociación entre la inflamación y el cáncer (Feller y col, 2013; Landskron y col, 2014), ya que la primera, cuando es crónica, provee un microambiente basado en citoquinas que es capaz de influir en la supervivencia, crecimiento, proliferación, diferenciación y movimiento celular, contribuyendo a la iniciación, promoción, progresión, invasión y metástasis (Lin y Karin, 2007; Mantovani, 2010). Citoquinas tales como factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y la interleuquina (IL)-6 inducen daño en el ADN -causando la iniciación del tumor (Feller y col, 2013; Landskron y col, 2014)- estimulan la proliferación celular y reducen la apoptosis, lo que favorece el crecimiento del tumor, mientras que citoquinas anti-inflamatorias, como IL-10 y factor de crecimiento tumoral β (TGF- β), contribuyen a su evasión inmune (Landskron y col, 2014). La propiedad invasiva del tumor está relacionada con citoquinas proinflamatorias tales como TNF- α , IL-6 e IL-8, las cuales también participan en la angiogénesis y metástasis (Feller y col, 2013).

La mucosa bucal, que en estado de salud actúa como barrera de protección, también puede ser sitio de asiento de procesos inflamatorios y cáncer (Feller y

col, 2013; Ali y col, 2014). La inflamación crónica -junto con el consumo de alcohol y tabaco- son condiciones que contribuyen a la iniciación, promoción y progresión del carcinoma de células escamosas (CCE), el cual puede originarse a partir de lesiones cancerizables como la lesión liquenoide bucal (LLB) entre otras (Carreras-Torras y Gay-Escoda, 2015; Lee y col, 2015; Gonzalez-Moles y col, 2017). Durante la transformación maligna de dichas lesiones, se produce la liberación de citoquinas y la activación de la inmunidad innata, lo que genera la activación de factor nuclear kappaB (FN-KappaB) y la presencia de IL-1 β , IL-6 e IL-8, asociadas a CCE (Lee y col, 2015).

La saliva, es eficaz para la predicción, diagnóstico y pronóstico del cáncer bucal, es un medio valioso para el monitoreo y el control en estados de salud y enfermedad (Liu y Duan, 2012; Schafer y col, 2014, Ohyama y col, 2014) y puede ser empleada para analizar la inmunidad mucosa a través de marcadores de inflamación como las citoquinas (Sato y col, 2010; Chiang y col, 2012).

El desarrollo, mantenimiento y función del sistema inmune depende, en parte, de una alimentación balanceada y adecuada (Sullivan y col, 1993). Nutrientes como los AG, que según la ausencia o presencia de dobles enlaces se clasifican en saturados (AGS) e insaturados, ejercen efectos sobre el sistema inmune y su regulación (Kelley, 2001). Los primeros inducen la inflamación (Volpe y col, 2013) al

promover la expresión de genes inflamatorios que codifican citoquinas, quimiocinas, ciclooxigenasas (COX), síntesis de óxido nítrico y metaloproteinasas (Calder, 2013). Por el contrario, los AG insaturados, particularmente los poliinsaturados (AGPI), presentan propiedades inmunomoduladoras relacionadas con eventos mediados por linfocitos T. Estos comprenden la alteración de las membranas celulares, cambios en las vías de señalización ligadas a proteínas de membrana y la producción de metabolitos bioactivos -como prostaglandinas (PGs), leucotrienos (LTs), y endocannabinoides- vinculados a los procesos inflamatorios (Nicolaou y col, 2014; Calder, 2017). Estos AG también pueden influenciar la expresión de genes involucrados en el desarrollo y la diferenciación de células inmunes e inflamatorias (Calder, 2013; Calder, 2017). Los AGPI de la serie n-6, como los ácidos araquidónico (AA) y linoleico (AL), tienen efectos inflamatorios ya que incrementan la producción de mediadores de la inflamación como eicosanoides y citoquinas, aumentan la incidencia de enfermedades de esta naturaleza, y dan como resultado un impacto sobre la expresión de genes inflamatorios. Se ha propuesto que algunos productos de la cascada del AA están involucrados en el desarrollo y crecimiento del cáncer bucal. La saliva humana contiene pequeñas cantidades de ácido 5-, 12- y 15-hidroxieicosatetraenoico

(5-, 12- y 15-HETE). Los productos de peroxidación lipídica pueden liberarse, por ejemplo, como consecuencia de reacciones inflamatorias de leucocitos o macrófagos dirigidos contra el desarrollo tumoral. Estos productos pueden interactuar directamente con el ADN y mediar su daño oxidativo. Los productos de peroxidación lipídica que surgen de las rutas de la COX o la lipoxigenasa (LOX) estarían implicados en los procesos de promoción y metástasis tumoral (Metzger y col, 1994).

Los AG de la serie n-3, como los ácidos eicosapentaenoico (AEP) y docosahexaenoico (ADH) poseen efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios (Kelley, 2001; Calder, 2017) que se deben a la regulación negativa de FN-kappaB, IL-1B, TNF- α e IL-6, y positiva de IL-10 (Volpe y Nogueira-Machado, 2013; Calder, 2017), alterando posteriormente la transcripción de citoquinas proinflamatorias (Simopoulos, 2002; Boutros y col, 2010). Asimismo, existen compuestos bioactivos derivados de AEP y ADH, como resolvinas, protectinas, maresinas y PGs E3 que son mediadores lipídicos antiinflamatorios con distintas vías de acción (Calviello y col, 2013; Calder, 2017). Un aumento de los AG n-3 provoca cambios en los fosfolípidos de las membranas de las células inmunes incidiendo en las vías de señalización proinflamatorias (Myles y col, 2014; Calder, 2017).

Si bien los AG dietarios han sido investigados en cuanto a su relación con el sistema inmune, y en especial con los procesos inflamatorios, no se han hallado estudios referidos a la asociación entre la ingesta de estos compuestos dietarios y la inflamación de la mucosa bucal.

Objetivos

- Analizar la concentración salival de citoquinas proinflamatorias IL-1B, IL-6 y FNT- α con relación a la ingesta de AGS, AG monoinsaturados (AGMI), AGPI y sus eicosanoides derivados, grasa total, índice de masa corporal (IMC) y valor energético total (VET).
- Correlacionar la ingesta de AG n-3 y n-6 y la inflamación de la mucosa bucal en pacientes con LLB y CCE.

Materiales y Métodos

Participaron en el estudio 25 personas las cuales fueron divididas en 3 grupos. El grupo G1 (n=8) fue conformado por voluntarios de ambos sexos, aparentemente sanos y con edades comprendidas entre 20 y 39 años, pertenecientes a la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba (FO-UNC). Luego de la firma del consentimiento informado se efectuó un examen del sistema estomatognático e historia clínica para conocer su estado de salud general y bucal. Fueron considerados los siguientes criterios de

inclusión: firma del consentimiento informado, ambos sexos, edades comprendidas entre 20 y 39 años, IMC normal: 18,5- 24,9 Kg/m² (De Girolami y González Infantino, 2008). Criterios de exclusión: regímenes alimentarios especiales, hábito de fumar, consumo excesivo de alcohol, administración de medicamentos (incluidos los anticonceptivos), presencia de factores irritativos como prótesis removible, fractura dentaria, presencia de patologías infecciosas, tumorales o metabólicas, ya sean sistémicas o localizadas en el sistema estomatognático, detectadas mediante historia clínica y examen clínico odontoestomatológico, respectivamente.

Pacientes que concurrieron a la Cátedra A de Estomatología de la FO-UNC y que presentaron diagnóstico de LLB y CCE confirmado mediante informe anatomopatológico conformaron los grupos G2 (n: 11) y G3 (n=6) respectivamente. Luego de la firma del consentimiento informado, se entregaron las instrucciones para la recolección de saliva -la cual fue obtenida previamente a la realización de la biopsia- y se tomaron fotografías clínicas. Con el informe anatomopatológico se confirmó el diagnóstico y se incorporaron los pacientes al estudio.

Información alimentario-nutricional

Una vez incorporado el/la participante al grupo de estudio G1, G2 o G3, se completó una encuesta de frecuencia de consumo alimentario cuali-cuantitativo

validada (Perovic, 2006) y a través de ella, se obtuvo información sobre datos antropométricos, características de la dieta habitual (alta o baja en cantidad y calidad de grasas), frecuencia de consumo (mensual, semanal, diaria o nunca) y tamaño de la porción (pequeña, mediana o grande). Fue realizada por un nutricionista y se complementó con un atlas fotográfico validado para facilitar la cuantificación de la porción de los alimentos (Vásquez y Witriw, 1997).

Muestras de saliva

De cada participante se obtuvo una muestra de 5 ml de saliva total o mixta no estimulada, cuya recolección se efectuó según normas internacionales. Una vez recibidas, las muestras fueron separadas en alícuotas y almacenadas en *freezer* a -80°C hasta su procesamiento.

Información alimentario-nutricional

Los datos recolectados a través de la encuesta de frecuencia de consumo alimentario fueron procesados mediante el programa informático *Interfood v.1.3* (Defagó, 2009) a fin de obtener el consumo de alimentos y de nutrientes (lípidos y AG) (g/día, mg/día).

Análisis de citoquinas

Las muestras de saliva fueron centrifugadas a 3.500 rpm durante 15 minutos a 4 °C, se tomó la fase fluida y se realizó la determinación de la concentración total de proteínas (método de Bradford) y citoquinas IL-1B, IL-6 y FNT- α mediante el *test enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)* para

humanos siguiendo su protocolo de manufactura (Katakura y col, 2007).

Análisis de eicosanoides

Se analizaron los eicosanoides salivales ácido hidroxihexadecatienoico (12-HHT), ácido hidroxioctadecaenoico (13-HODE), 5- y 12-HETE mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)/ espectrometría de masa (MS). Se utilizó un cromatógrafo *Beckman System Gold*, provisto de bomba binaria y detector UV, con una columna C18 (5 μ m, 4,6x 250 mm) (Phenomenex, Inc. USA). La separación de metabolitos se logró con un gradiente lineal de disolvente metanol: agua: ácido acético, 50: 50: 0,02 (v/v/v), pH 6 a disolvente metanol, durante 20 min (García, 2015). Los metabolitos fueron detectados en espectrómetro de masa (Weiss, 2013).

Análisis estadístico

Se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para comparar los valores de citoquinas en saliva según todas las variables en estudio (IMC, VET, ingesta de AGS, AGMI, AGPI) y el coeficiente de correlación de Spearman para correlacionarlos con la concentración salival de eicosanoides y la ingesta de AG (Conover, 1999). En ambos casos se consideró un nivel de significancia del 5%. Para realizar dichos análisis, se utilizó el programa estadístico *InfoStat*.p.1. (2005).

Aspectos éticos

Este trabajo se adecuó a los principios bioéticos de investigación en seres humanos según la normativa nacional e internacional y sus aspectos éticos fueron

aprobados por el Comité Académico e Institucional de Ética en Investigaciones en Salud, FO-UNC (ODO-CIEIS N°6T/15).

Resultados y Discusión

Se analizaron las variables nutricionales según los grupos de estudio (tabla 1). En los pacientes del grupo G3 si bien se observó un mayor consumo de Grasa total, AGS, AGMI y AGPI con respecto a G1 y G2, estas diferencias no fueron significativas. El IMC, fue mayor en el grupo G2 y G3 ($p=0,0020$) y su media estuvo por encima de los valores normales.

Tabla 1. Variables nutricionales analizadas según los grupos de estudio.

Variables nutricionales	Grupo						p-valor*
	G1		G2		G3		
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	
VET	2331,08	517,06	2495	530,38	2982	910,78	0,172
IMC (Kg/m ²)	23,93	3,04	3125	3,89	3185	6,8	0,002
Colesterol (mg/día)	301,74	115,78	275,45	98,92	356,82	134,7	0,273
Grasa total (g/día)	914	29,89	85,37	27,67	114,01	64,8	0,337
AGS (mg/día)	12,19	6,2	10,46	4,03	14,29	7,06	0,415
AGMI (mg/día)	16,54	5,61	13,76	5,07	17,36	9,28	0,709
AGPI (mg/día)	12,23	5,79	12,93	10,6	13,51	9,97	0,93
18:2 n-6 AL (mg/día)	12,78	5,58	13,45	7,83	16,12	9,77	0,978
18:3 n-3 AAL (mg/día)	0,18	0,08	0,26	0,14	0,36	0,24	0,213
20:4 n-6 AA (mg/día)	0,22	0,16	0,21	0,14	0,36	0,25	0,498

G1: Sanos; G2: Lesión liquenoide bucal; G3: Carcinoma de células escamosas; VET: valor energético total; IMC: índice de masa corporal; AGS: ácidos grasos saturados. AGMI: ácidos grasos monoinsaturados. AGPI: ácidos grasos poliinsaturados. DE: Desvío estándar. * Prueba de Kruskal Wallis

Se analizaron las concentraciones de citoquinas salivales según los grupos de estudio (tabla 2). G2 y G3 presentaron

una concentración mayor de IL-6 salival con relación al grupo G1 ($p=0,0083$). IL-1 β y TNF- α no mostraron diferencias de concentración entre los grupos.

Cuando se analizó la relación entre las variables nutricionales en estudio y la concentración de citoquinas salivales, no se halló ninguna asociación significativa.

Pero cuando se analizó esa correlación en cada grupo de estudio individualmente, se observó una asociación negativa significativa en G2 entre la ingesta de 18:3 n-3 AAL y los niveles salivales de TNF- α (coeficiente de correlación de Spearman: -0,61; $p=0,0482$). En G3, si bien no se hallaron correlaciones significativas, se observó una tendencia a la asociación negativa entre los niveles de IL-1 β y la ingesta de 22:6 n-3 ADH (coeficiente de correlación de Spearman: -0,77; $p=0,08$) y positiva entre AGS dietarios y esta citoquina (coeficiente de correlación de Spearman: 0,83; $p=0,06$).

Tabla 2. Concentración de citoquinas según grupo de estudio

Citoquinas (pg/mg)	Grupo						p-valor*
	G1		G2		G3		
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	
IL-1 β	1179,89	506,01	2122,42	4125,8	671,17	613,62	0,3816
IL-6	97,39	243,93	392,7	343,47	238,04	172,03	0,008
TNF- α	17,2	36,58	64,61	114,62	36,15	31,69	0,1268

G1: Sanos; G2: Lesión liquenoide bucal; G3: Carcinoma de células escamosas; IL-1B: Interleuquina-1B; IL-6: Interleuquina-6; TNF- α : Factor de necrosis tumoral α ; DE: Desvío estándar.

* Prueba de Kruskal Wallis

Se analizaron las concentraciones de eicosanoidessalivales en cada grupo de estudio (tabla 3). Las concentraciones

medias de G2 fueron mayores que en G1 y G3. Es importante aclarar que, en esos dos grupos, no fue posible detectar todos los eicosanoides analizados.

Tabla 3. Concentraciones medias de eicosanoides salivales según grupo de estudio

Eicosanoides salivales (ng/mL)	Grupo		
	G1	G2	G3
	Media	Media	Media
12-HHT	*	0,07	*
13-HODE	*	1	0,62
12-HETE	*	26,03	*
5-HETE	2,52	20,39	10,42

G1: Sanos; G2: Lesión liquenoide bucal; G3: Carcinoma de células escamosas; 12-HHT: ácido hidroxihexadecatrienoico; 13-HODE: ácido hidroxioctadecatrienoico; 12-HETE: ácido 12-hidroxieicosatetraenoico; 5-HETE: ácido 5-hidroxieicosatetraenoico.*Valores no detectados

Cuando se correlacionó la concentración de citoquinas y eicosanoides salivales, se observó en G3 una asociación positiva entre IL-1 β y los niveles salivales de 5-HETE (coeficiente de correlación de Spearman: 0,82; p=0,04).

No se encontró asociación entre el consumo de AG dietarios y los eicosanoides salivales analizados.

Se ha demostrado asociación entre la ingesta de grasas y la carcinogénesis. El consumo de lípidos, dependiendo de su cantidad y composición, está relacionado con el desarrollo o la prevención de diferentes tipos de tumores (Taghavi y Yazdi, 2007). Han y col. (2015) observaron en su estudio, que el consumo de grasa total mostró una fuerte asociación con el riesgo de cáncer

gástrico, ubicado al igual que el CCE, en el tracto digestivo. Secchi y col. (2015) observaron que pacientes con CCE bucal presentaron mayor consumo de lípidos comparado con pacientes sanos. Según nuestros resultados, los pacientes con CCE tuvieron un mayor consumo medio de grasa total que aquellos que no desarrollaron esta patología, y si bien esa diferencia no fue significativa, podría indicar un tipo de patrón dietario de riesgo. Los pacientes con LLB y CCE, presentaron un mayor IMC con respecto a los pacientes sanos. Estudios previos demostraron que el IMC es un predictor de supervivencia en varios tipos de cáncer, como el de mama, útero y el linfoma. Secchi y col. (2015) y Bradshaw y col (2012) no encontraron diferencias entre el IMC de pacientes con CCE bucal y pacientes sanos. El efecto de la obesidad sobre la aparición, diagnóstico, tratamiento y pronóstico de LLB y CCE permanece desconocido y es necesario continuar investigando en este sentido.

Con respecto a las citoquinas proinflamatorias, los pacientes con LLB y CCE presentaron una mayor concentración salival de IL-6 con respecto a los pacientes sanos. Esos resultados coinciden con los de Sato y col. (2010), Brailo y col. (2012) y los de Khyani y col. (2017). En relación a la concentración salival de IL-1 β y TNF- α , nosotros no hallamos diferencias entre los pacientes con LLB, CCE y los voluntarios sanos. Katakura y col. (2007) y Brailo y col.

(2012) observaron que los niveles de IL-1 β salival fueron significativamente mayores en pacientes con cáncer bucal comparado con un grupo control. Con respecto a TNF- α , Brailo y col. (2012) tampoco encontraron diferencias. Por el contrario, Krishnan y col. (2014) observaron un aumento en el nivel de TNF- α sérico y salival en los pacientes con CCE en comparación con el grupo control.

Por otro lado, Jablonska y col. (1997) observaron que los niveles séricos de esas tres citoquinas fueron más altos que en los grupos controles. Chen y col, 1999; St John y col, 2004; Jablonska y col, 1997, evaluaron la concentración sérica de IL-6 y observaron concentraciones más altas de esa citoquina en pacientes con CCE que en voluntarios sanos. Jablonska y col. (1997) sugiere a esta citoquina como potencial marcador del cáncer bucal. En este sentido, cabe aclarar que todos los fluidos corporales, incluyendo la saliva, se producen como resultado del proceso de filtración y secreción del plasma.

La LLB es una reacción inflamatoria crónica, en la que se genera producción de citocinas y quimiocinas por activación de los receptores *Toll-like*, y su reactividad se potencia mediante el reclutamiento de linfocitos T que forman un infiltrado linfocitario difuso y, de este modo, crean un estado proinflamatorio permanente (Salem y col, 2017).

Larsen y col. (2017) observaron en los pacientes con LLB niveles más altos de

IL-6 salival que en los sujetos sanos, lo cual coincide con nuestros resultados. IL-6 es una citoquina proinflamatoria involucrada en procesos patológicos como trauma, infección, desarrollo y progresión de la inflamación y malignidad (Nibail y col, 2012). Su concentración elevada en la saliva de pacientes con LLB y CCE estaría indicando el estado inflamatorio de la mucosa bucal. Se debe continuar investigando en este sentido, y considerar además variables como el sexo y la edad en relación a esas citoquinas proinflamatorias.

Con respecto a la ingesta de AG dietarios y la inflamación, los pacientes con LLB presentaron una asociación negativa entre la ingesta de 18:3 n-3 AAL y la concentración salival de TNF- α . En pacientes con CCE, se observó una fuerte tendencia a una asociación positiva entre el consumo de AGS y la concentración salival de IL-1B y negativa entre la ingesta de 22:6 n-3 ADH y esa citoquina. Con respecto a esto, no se encontraron reportes con los cuales comparar nuestros resultados. TNF- α y IL-1B son citoquinas proinflamatorias provenientes de la vía de señalización activada por FN-kappaB (Calder, 2017), y como se expuso anteriormente esa puede ser regulada por diferentes AG, lo cual explicaría las asociaciones observadas en nuestros resultados. Asimismo, los eicosanoides son derivados de AG esenciales que participan activamente en mecanismos inflamatorios y de respuesta inmune. Sus

precursores son el AA y el AAL. Debido a que el AA es el AGPI más abundante en las membranas celulares, la mayor parte de eicosanoides proceden de éste a través de diversas vías enzimáticas (Calder, 2017). Un alto contenido de AA proporciona un vínculo directo con la inflamación, ya que cuando es liberado de los fosfolípidos de la membrana celular actúa como sustrato de las enzimas COX, LOX y citocromo P450 para producir importantes mediadores inflamatorios como los eicosanoides (Calder, 2017; Zárate y col, 2017; SainiyKeum, 2018). La incorporación de AEP y ADH es en parte a expensas de AA, lo que resulta en una menor disponibilidad de ese sustrato habitual para la síntesis de eicosanoides y activación de vías proinflamatorias. Además, se ha demostrado que el AEP inhibe el metabolismo del AA y disminuye la expresión del gen COX-2 (Calder, 2017; Saini y Keum, 2018). Esto explicaría porque en pacientes con LLB, un mayor consumo de AAL, precursor de AEP y ADH, reduciría la concentración salival de TNF- α , asociación que observamos en nuestros resultados.

Metzger y col. (1994) investigaron la actividad de la LOX en la saliva humana y determinaron los niveles salivales de AL, AA y sus derivados monohidroxilados en pacientes con CCE y en pacientes sanos. Observaron que el eicosanoide más abundante en saliva total o mixta de pacientes con CCE fue el 12-HETE. Por el

contrario nosotros no detectamos ese eicosanoide en ese grupo, pero si fue el más abundante en la saliva de pacientes con LLB. Por otro lado, Metzger y col. (1994) no detectaron 12-HHT en saliva de pacientes sanos, lo cual coincidió con nuestro resultado. En pacientes con LLB detectamos ese eicosanoide en baja cantidad. Metzger y col. (1994) observaron una mayor concentración de AA libre y de 5-, 12-HETE y 13-HODE en saliva mixta en los pacientes con CCE en relación a los sanos. Nosotros encontramos esos tres eicosanoides en concentración elevada en pacientes con LLB, y solo 5-HETE y 13-HODE en CCE. Es importante remarcar que en los pacientes con CCE la concentración salival de IL-1B estuvo asociada a una mayor concentración de 5-HETE.

Según los resultados de su estudio, Metzger y col. (1994) exponen que los AG libres, HODE y HETE encontrados en la saliva total o mixta de pacientes con CCE, son liberados por el tejido del CCE o se originan a partir de macrófagos y leucocitos (fuentes importantes de 5-, 12- y 15-LOX) que participan en la respuesta inmune inflamatoria dirigida por el tumor (Metzger y col, 1994).

Los niveles salivales elevados de HETE, en particular de 5 y 12-HETE, podrían ser considerados como marcadores de procesos inflamatorios de la cavidad bucal.

Por otro lado, no fue posible hallar estudios que analicen la ingesta de AG y

su relación con la concentración salival de esos eicosanoides en pacientes con LLB y CCE.

AL y AAL son AG esenciales ya que no pueden ser sintetizados por el organismo y deben ser aportados por la dieta. Una vez ingeridos, dan lugar al AA, AEP y ADH que desempeñan un papel clave en la regulación de la homeostasis. En general, AA da lugar a eicosanoides y citoquinas proinflamatorias, mientras que AEP y ADH a metabolitos antiinflamatorios (Saini y Keum, 2018). Si bien en nuestro estudio, no observamos diferencias en la ingesta de esos AG en pacientes sanos, y con diagnóstico de LLB y CCE, si encontramos una importante asociación entre el consumo de AGPI como AAL y ADH y la disminución de citoquinas proinflamatorias en pacientes con diagnóstico de LLB y CCE, relación no reportada hasta el momento.

CONCLUSIÓN

Los AG dietarios influyen en la inflamación de la mucosa bucal, y el conocimiento acerca de esa asociación, brinda información útil sobre la modulación de su estado inmunológico. Es necesario continuar investigando en este sentido, a fin de poder efectuar recomendaciones alimentarias y aplicar medidas que contribuyan a la prevención de enfermedades inflamatorias y cáncer bucal.

FINANCIAMIENTO

Universidad Nacional de Córdoba (Secretaría de Ciencia y Técnica; Res #313/16/17).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Actis AB, Perovic NR, Defagó D, Beccacece C, Eynard AR. Fatty acid profile of human saliva: a possible indicator of dietary fat intake. *Arch Oral Biol.* 2005; 50 (1): 1-6.
2. Ali FM, Patil A, Patil K, Prasant MC. Oral submucous fibrosis and its dermatological relation. *Indian Dermatol Online J.* 2014; 5: 260-5.
3. Bradshaw PT, Siega-Riz AM, Campbell M, Weissler MC, Funkhouser WK, Olshan AF. Associations between dietary patterns and head and neck cancer: the Carolina head and neck cancer epidemiology study. *Am J Epidemiol.* 2012; 175 (12): 1225-33.
4. Brailo V, Vucicevic-Boras V, Lukac J, Biocina-Lukenda D, Zilic-Alajbeg I, Milenovic A, Balijs M. Salivary and serum interleukin 1 beta, interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in patients with leukoplakia and oral cancer. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012; 17 (1): e10-5.
5. Boutros C, Somasundar P, Razzak A, Helton S, Espat NJ. Omega-3 fatty acids: investigations from cytokine regulation to pancreatic cancer gene suppression. *Arch Surg.* 2010; 145:515-20.
6. Calder PC. Long chain fatty acids and gene expression in inflammation and

- immunity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2013; 16:425-33.
7. Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man. *Biochem Soc Trans*. 2017; 45 (5): 1105-1115.
 8. Calviello G, Su HM, Weylandt KH, Fasano E, Serini S, Cittadini A. Experimental evidence of ω -3 polyunsaturated fatty acid modulation of inflammatory cytokines and bioactive lipid mediators: their potential role in inflammatory, neurodegenerative, and neoplastic diseases. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 743171.
 9. Carreras-Torras C, Gay-Escoda C. Techniques for early diagnosis of oral squamous cell carcinoma: Systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2015; 20:305-15.
 10. Chen Z, Malhotra PS, Thomas GR, Ondrey FG, Duffey DC, Smith CW, Enamorado I, Yeh NT, Kroog GS, Rudy S, McCullagh L, Mousa S, Quezado M, Herscher LL, Van Waes C. Expression of proinflammatory and proangiogenic cytokines in patients with head and neck cancer. *Clin Cancer Res*. 1999; 5 (6): 1369-79.
 11. Chiang JJ, Eisenberger NI, Seeman TE, Taylor SE. Negative and competitive social interactions are related to heightened proinflammatory cytokine activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109:1878-82.
 12. Cildir G, Akincilar SC, Tergaonkar V. Chronic adipose tissue inflammation: all immune cell sonthestage. *Trends Mol Med*. 2013; 19: 487-500.
 13. Conover WJ. Practical nonparametric statistics. 3a ed. United States of America.1999.
 14. Defagó MD, Perovic NR, Aguinaldo CA and Actis AB. Desarrollo de un programa informático para estudios nutricionales. *Rev Panam Salud Pública* 2009; 25: 362-6.
 15. De Girolami, D & González Infantino, C. Clínica y terapéutica en la nutrición del adulto. 1ª ed. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina. 2008.
 16. Elinav E, Nowarski R, Thaiss CA, Hu B, Jin C, Flavell RA. Inflammation-induced cancer: cross talk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat Rev Cancer*. 2013; 13: 759-71.
 17. Feller L, Altini M, Lemmer J. Inflammation in the context of oral cancer. *Oral Oncol*. 2013; 49: 887-92.
 18. Feng JF, Huang Y, Chen QX. A new inflammation index is useful for patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Onco Targets Ther*. 2014; 7: 1811-5.
 19. Folch J, Lees M, Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*.1957; 226: 497-508.
 20. Garcia CP, Lamarque AL, Comba A, Berra MA, Silva RA, Labuckas DO, et al. Synergistic anti-tumor effects of melatonin and pufas from walnuts in a

murine mammary adenocarcinoma model. *Nutrition*. 2015; 31:570-7.

21. Gonzalez-Moles MA, Gil-Montoya JA, Ruiz-Avila I, Bravo M. Is oral cancer incidence among patients with oral lichen planus/oral lichenoid lesión sunderestimated? *J Oral Pathol Med*. 2017; 46 (2): 148-153.

22. Han J, Jiang Y, Liu X, Meng Q, Xi Q, Zhuang Q, Han Y, Gao Y, Ding Q, Wu G. Dietary fat intake and risk of gastric cancer: A meta-analysis of observational studies. *PLoSOne*. 2015; 10 (9): e0138580.

23. Jablonska E, Piotrowski L, Grabowska Z. Serum levels of IL-1b, IL-6, TNF-a, sTNF-RI and CRP in patients with oral cavity cancer. *Pathol Oncol Res*. 1997; 3 (2): 126-129.

24. Kandouz M, Nie D, Pidgeon GP, Krishnamoorthy S, Maddipati KR, Honn KV. Platelet-type 12-lipoxygenase activates NF-kappaB in prostate cancer cells. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2003; 71 (3-4): 189-204.

25. Katakura A, Kamiyama I, Takano N, Shibahara T, Muramatsu T, Ishihara K, Takagi R, Shouno T. Comparison of salivary cytokine levels in oral cancer patients and healthy subjects. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2007; 48 (4): 199-203.

26. Kelley DS. Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fatty acids. *Nutrition*. 2001; 17: 669-73.

27. Khyani IAM, Qureshi MA, Mirza T, Farooq MU. Detection of interleukins-6

and 8 in saliva as potential biomarkers of oral pre-malignant lesion and oral carcinoma: A breakthrough in salivary diagnostics in Pakistan. *Pak J Pharm Sci*. 2017; 30 (3): 817-823.

28. Krishnan R, Thayalan DK, Padmanaban R, Ramadas R, Annasamy RK, Anandan N. Association of serum and salivary tumor necrosis factor- α with histological grading in oral cancer and its role in differentiating premalignant and malignant oral disease. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014; 15 (17): 7141-8.

29. Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P, Thuwajit C, Hermoso MA. Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *J Immunol Res*. 2014; 2014: 149185.

30. Larsen KR, Johansen JD, Reibel J, Zachariae C, Pedersen AML. Serum cytokine profile and clinicopathological findings in oral lichen planus, oral lichenoid lesions and stomatitis. *Clin Exp Dent Res*. 2017; 3 (6): 220-226.

31. Lee CH, Chang JS, Syu SH, Wong TS, Chan JY, Tang YC, Yang ZP, Yang WC, Chen CT, Lu SC, Tang PH, Yang TC, Chu PY, Hsiao JR, Liu KJ. IL-1 β promotes malignant transformation and Tumor aggressiveness in oral cancer. *J Cell Physiol*. 2015; 230: 875-84.

32. Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest*. 2007; 117: 1175-83.

33. Liu J, Duan Y. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral Oncol.* 2012; 48: 569-77.
34. Mantovani A. Molecular pathway slinking inflammation and cancer. *Curr Mol Med.* 2010; 10: 369-73.
35. Metzger K, Angres G, Maier H, Lehmann WD. Lipoxygenase products in human saliva: patients with oral cancer compared to controls. *Free Radic Biol Med.* 1995; 18 (2): 185-94.
36. Myles IA, Pincus NB, Fontecilla NM, Datta SK. Effects of parental omega-3 fatty acid intake on off spring microbiome and immunity. *PLoSOne.* 2014; 9.
37. Nibali L, Fedele S, D'Aiuto F, Donos N. Interleukin-6 in oral diseases: a review. *Oral Dis.* 2012; 18 (3): 236-43.
38. Nicolaou A, Mauro C, Urquhart P, Marelli-Berg F. Polyunsaturated fatty acid-derived lipid mediators and T cell function. *Front Immunol.* 2014; 5: 75.
39. Ohyama K, Moriyama M, Hayashida JN, Tanaka A, Maehara T, Ieda S, Furukawa S, Ohta M, Imabayashi Y, Nakamura S. Saliva as a potential tool for diagnosis of dry mouth including Sjögren's syndrome. *Oral Dis.* 2014; 21: 224-31.
40. Perovic NR, Defagó MD, Aguinaldo A, Joekes S and Actis AB. Validación y reproducibilidad de un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario para valorar la ingesta de nutrientes y fitoquímicos en relación a algunos tumores hormono-dependientes en Argentina. *Public Health Nutr* 2006; 9: 114.
41. Sato J, Goto J, Murata T, Kitamori S, Yamazaki Y, Satoh A, Kitagawa Y. Changes in saliva interleukin-6 levels in patients with oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 110: 330-6.
42. Salem A, Mustafa R, Listyarifah D, Al-Samadi A, Barreto G, Nordström D, Eklund KK. Altered Expression of Toll-like Receptors in Human Oral Epithelium in Oral Lichenoid Reactions. *Am J Dermatopathol.* 2017; 39 (11): 811-818.
43. Saini RK, Keum YS. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: dietary sources, metabolism, and significance- A review. *Life Sci.* 2018; 203: 255-267.
44. Schafer CA, Schafer JJ, Yakob M, Lima P, Camargo P, Wong DT. Saliva diagnostics: utilizing oral fluids to determine health status. *Monogr Oral Sci.* 2014; 24: 88-98.
45. Secchi DG, Aballay LR, Galíndez MF, Piccini D, Lanfranchi H, Brunotto M. Red meat, micronutrients and oral squamous cell carcinoma of argentine adult patients. *Nutr Hosp.* 2015; 32 (3): 1214-21.
46. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr.* 2002; 21: 495-505.
47. St John MA, Li Y, Zhou X, Denny P, Ho CM, Montemagno C, Shi W, Qi F, Wu B, Sinha U, Jordan R, Wolinsky L, Park NH, Liu H, Abemayor E, Wong DT.

Interleukin 6 and interleukin 8 as potential biomarkers for oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2004; 130 (8): 929-35.

48. Sullivan DA, Vaerman JP, Soo C. Influence of severe protein malnutrition on rat lacrimal, salivary and gastrointestinal immune expression during development, adulthood and ageing. Immunology. 1993; 78: 308-17.

49. Taghavi N, Yazdi I. Type of food and risk of oral cancer. Arch Iran Med. 2007; 10 (2): 227-32.

50. Tishler M, Yaron I, Raz A, Meyer FA, Yaron M. Salivary eicosanoid concentration in patients with Sjögren's syndrome. Ann Rheum Dis. 1996; 55 (3): 202-4.

51. Volpe CM, Nogueira-Machado JA. The dual role of free fatty acid signaling in inflammation and therapeutics. Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov. 2013; 7: 189-97.

52. Vásquez MB, Witriw AM. Modelos visuales de alimentos y tablas de relación peso/volumen. 1ª ed. Buenos Aires: I.S.B.N; 1997. p. 1-42.

53. Weiss GA, Troxler H, Klinke G, Rogler D, Braegger C, Hersberger M. High levels of anti-inflammatory and pro-resolving lipid mediators lipoxins and resolvins and declining docosahexaenoic acid levels in human milk during the first month of lactation. Lipids Health Dis. 2013; 12: 89.

54. Zárata R, El Jaber-Vazdekis N, Tejera N, Pérez JA, Rodríguez C. Significance of long chain polyunsaturated fatty acids in human health. Clin Transl Med. 2017; 6 (1): 25.