

NUEVOS ÁCIDOS GRASOS
OMEGA-3 ENZIMÁTICOS
ACTUALIZACIÓN CIENTÍFICA

(El objetivo principal de esta presentación es mostrarles nuestra experiencia en el uso de ácidos grasos omega-3)



En este sentido conviene inicialmente situar el concepto **omega-3 como valor nutricional y terapéutico**.

Es un hecho admitido por la comunidad científica que la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) omega-3 representa un **beneficio para la salud en general**. Una gran cantidad de estudios con ácidos grasos omega-3 han demostrado su importancia en la dieta, aun cuando estos microalimentos no se consideran esenciales ya que son sintetizados, pero en cantidades excesivamente bajas, para cubrir las necesidades del cuerpo.

Diversos estudios básicos, clínicos y epidemiológicos han reportado **ventajas importantes en la ingesta de ácidos grasos omega-3 en campos tan diversos como cardiología, neurología, oncología, patologías inflamatorias crónicas, oftalmología...** Además, es un **componente crítico para el desarrollo y funcionalidad del cerebro**.



BENEFICIOS NUTRICIONALES Y TERAPÉUTICOS DE LOS OMEGA-3

ESPECIALIDAD MÉDICA	REDUCCIÓN EN EL RIESGO O IMPACTO
Cardiología	Toda causa de mortalidad, muerte súbita cardíaca, isquemia, infarto cerebral, reducción de triglicéridos (especialmente con DHA), aumento de las HDL, pero generalmente no modifica los niveles de lípidos a dosis bajas, presión arterial y reducción de taquicardias.
Dermatología	Soriasis, melanoma.
Gastroenterología	Cáncer de Colon, enfermedad inflamatoria intestinal (Enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa).
Inmunología/Enfermedades infecciosas/Nefrología	Asma, hepatitis, nefropatías.
Neurología	Enfermedad del Alzheimer (especialmente DHA), demencia, autismo, desorden de falta de atención-hiperactividad
Obstetricia/Ginecología/Pediatría	Salud maternal e infantil (especialmente DHA), cognoscitiva (aumento del coeficiente intelectual) y la agudeza visual en recién nacidos y adolescentes, mejora la duración del embarazo y el peso del feto, y una gran variedad de otros síntomas, como por ejemplo la depresión post-parto.
Oncología	Cáncer de mama, colorectal, de endometrio, leucemia, melanoma, de ovario, de páncreas, de próstata, renal... Puede mejorar el índice terapéutico de los citostáticos (5-fluorouracilo, ciclofosfamida) e inhibe la caquexia asociada al tumor (reduce pérdida de peso).
Oftalmología	Degeneración Macular asociada a la edad, Retinitis Pigmentosa.
Ortopedia	Osteoporosis/fracturas, inflamaciones de las articulaciones (artritis).
Psiquiatría	Depresión, desorden bipolar, esquizofrenia, desorden de falta de atención-hiperactividad.
Reumatología	Artritis reumatoide, osteoartritis, osteoporosis.
Cirugía	Mejora la recuperación en el post-operatorio, pero hay que tener precauciones en su administración a altas dosis (> 10 g/g) conjuntamente con anticoagulantes.
Urología	Cáncer de próstata, prostatitis, hiperplasia prostática benigna.

DESVENTAJAS

- Un reciente meta-análisis realizado por Hooper et al. ha concluido que no se ha podido documentar, de manera objetiva y estadísticamente significativa, un efecto beneficioso en el consumo de PUFAs omega-3 en la mortalidad relacionada con eventos cardiovasculares o cáncer ¹.
- Tampoco se ha documentado, de manera objetiva y estadísticamente significativa, el efecto de los omega-3 en la reducción del riesgo de desarrollar cáncer².

SIN EMBARGO

- Los estudios anteriormente citados presentaban diferentes deficiencias en su planteamiento relacionadas con la no separación de las intervenciones realizadas con los diferentes ácidos omega-3 o mezclas de los mismos en forma de aceite de pescado o suplementos alimenticios enriquecidos.
- También se ha observado una falta de homogeneidad en cuanto a la duración y las dosis en cada tratamiento.
- Así como tampoco se ha valorado la importancia de la estructura química en la que se ha administrado el ácido omega-3: triglicérido (TG), éster etílico (EE) o ácido graso libre (FA).

¹ Hooper L. et al. Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease and cancer: systematic review. *BMJ* 2006; 332:752-760; Balk E.M. et al. Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: A systematic review. *Atherosclerosis* 2006; 189:19-30.

² MacLean CH et al. Effects of omega-3 fatty acids on cancer risk: a systematic review. *JAMA* 2006; 295:403-15)

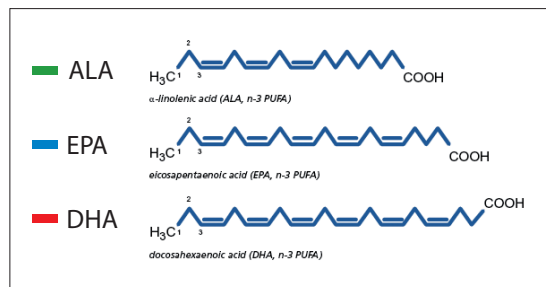
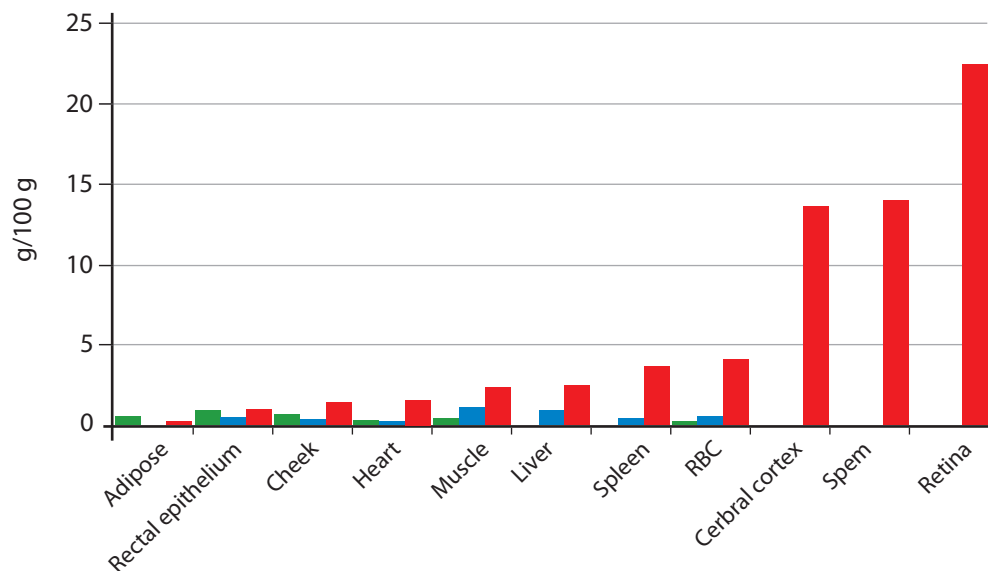
- Teniendo en cuenta esta controversia, la opinión de diferentes expertos es que deberían mantenerse las actuales recomendaciones en el consumo de ácidos grasos omega-3 pero teniendo en cuenta una serie de **criterios que deberían cumplir los ácidos grasos omega-3 para su aplicación nutricional y terapéutica**, como son:

- Manufacturar los PUFAs omega-3 siguiendo los criterios similares a los estándares farmacéuticos que incluyen **controles de calidad en todas las etapas de producción** para asegurar su **pureza y calidad**.
- Utilizar **compuestos con un contenido mínimo de 60% en PUFA omega-3** de todos los ácidos grasos.
- La **relación omega-3/omega-6 debe ser mayor de 50:1**.

Estas recomendaciones están de acuerdo con las conclusiones de un workshop sobre ácidos grasos

- omega-3 recientemente publicadas en la revista Journal American Clinical Nutrition, que además destaca como punto importante la necesidad de realizar más ensayos clínicos que permitan calibrar el potencial real de los ácidos grasos omega-3 tanto a nivel preventivo como terapéutico.

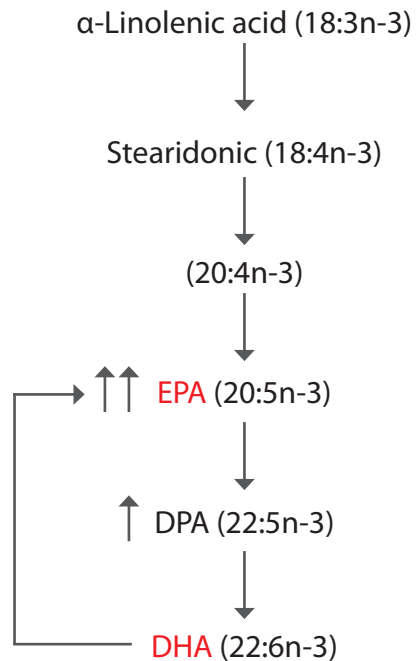
¿QUÉ ÁCIDO GRASO OMEGA-3?



Estudio transversal del contenido en ácidos grasos en tejidos de adultos de Estados Unidos, Canadá, Australia y Europa.

- De acuerdo con estos criterios el primer punto a resolver es la elección del PUFA **omega-3** más adecuado para un determinado tratamiento. Los tres ácidos grasos de la serie 3 más importantes, fisiológicamente hablando, son:
 - El alfa-linolénico (ALA)
 - El eicosapentaenoico (EPA)
 - El docosahexaenoico (DHA)
- El **DHA** es el ácido graso omega-3 más abundante en las membranas y está presente en todos los órganos. Es particularmente el más abundante en el sistema nervioso central, en el esperma y en la retina, además del más variable entre los órganos.
- Sólo pequeñas cantidades de **ALA** y de **EPA** están presentes en los tejidos, y el contenido en **DHA** es habitualmente entre 5-30 veces superior al del **EPA** en la mayoría de los órganos. Además, el **DHA** es unas 100 veces más abundante que el **EPA** en el cerebro y la retina.

¿QUÉ ÁCIDO GRASO OMEGA-3?



- Aunque los tres ácidos grasos están relacionados metabólicamente, diversos estudios han demostrado que la administración de ALA no genera las cantidades fisiológicas necesarias de DHA y de EPA. En cuanto a la administración de DHA o EPA, las últimas recomendaciones sugieren que la vía más eficiente para el incremento de las concentraciones de un ácido omega-3 es la administración de dicho ácido específicamente. De todas maneras en un planteamiento más general **la administración de DHA garantiza una concentración básica de EPA, mientras que la administración exclusiva de este último disminuye la concentración de DHA.**
- En humanos, la capacidad endógena de convertir ALA en DHA o EPA es muy baja o inexistente, por esta razón, el consumo de DHA en la dieta puede ser crítico para mantener la concentración adecuada de DHA en las membranas celulares. *BrJ Nutr2002; 88:355–363.*
- Retroconversión de DHA-EPA: en el grupo de DHA, su concentración aumento un 69% y la del EPA un 29%. En el grupo de EPA, este creció un 297% mientras que el DHA decreció un 15%. *AmJ ClinNutr1997; 66:649-59/ AmJ ClinNutr2000; 71:1085–94/ Am J Clin Nutr 2004;79:765–73.*

¿QUÉ ÁCIDO GRASO OMEGA-3?

- El DHA es el ácido graso n-3 en el sistema nervioso central.
- Por otra parte desde un punto de vista nutricional, cuyo objetivo es el de recuperar los depósitos de ácidos grasos omega-3, la **administración de DHA garantiza una intervención en el sistema nervioso central** ya que la concentración de EPA en este tejido es puramente testimonial.
- Dietas que contienen un 9,5% de DHA, inhiben completamente la degeneración de la retina inducida por la N-Metil-N-nitrosourea, en cambio las dietas que contienen un 4,75% de DHA (grupo EPA+DHA) o sólo EPA no tuvieron un efecto protector. *Exp Eye Res 2003; 77:167–173.*
- El DHA es el precursor de los docosatrienos y las resolvinas de la serie D que regulan los procesos asociados a la inflamación y su resolución final. *J Biol Chem 2003; 278:14677–14687.*
- El DHA hidrolizado de los fosfolípidos de membrana es el precursor endógeno de la respuesta neuro-protectiva frente a la reperfusión isquémica. *J Biol Chem 2003; 278: 43807–43817.*
- La síntesis del 10,17S-docosatrieno, neuroprotectina D1, protege a las células de la retina de la apoptosis inducida por estrés oxidativo, de una manera similar se sugiere que protegerá a las neuronas. *Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101: 8491–8496.*

BIODISPONIBILIDAD

TIPO DE ACEITE	CONTENIDO EN PUFA N-3 (%)	BIODISPONIBILIDAD*
Aceite de pescado	25-30%	74-100%
Ésteres etílicos	>85%	21-57%
Ácidos grasos libres	>65%	51%
Triglicéridos Re-esterificados	min 70-75%	98%

En un estudio In vivo en 24 personas sanas comparando una sola toma oral de PUFAs n-3 en estructuras químicas diferentes, se demostró un mayor nivel plasmático de PUFAs n-3 en el grupo tratado con aceite re-esterificado.

**Extraído de una publicación de la empresa SIGMA-TAU.*

- Otro aspecto interesante que puede condicionar la eficacia de un determinado tratamiento es la biodisponibilidad de los ácidos omega-3. Existen numerosos estudios en animales que han demostrado que **los glicéridos son los transportadores más eficaces para los ácidos grasos**. Además los glicéridos se consideran la forma química más favorable desde un punto de vista alimentario, superior a los ésteres etílicos de ácidos grasos insaturados los cuales presentan una absorción intestinal deteriorada de los ácidos grasos n-3 observados como se ha demostrado en animales de laboratorio. También se ha demostrado que **los ésteres etílicos de ácidos grasos no saturados se hidrolizan a una velocidad más lenta que los glicéridos correspondientes**.
- Un estudio en humanos realizado por la empresa farmacéutica SIGMA-TAU demostró que **los triglicéridos obtenidos por reesterificación presentan una biodisponibilidad similar al aceite de pescado natural y muy superior a la de los ácidos grasos libres**; que además generan problemas digestivos; y también superior a la de los ésteres etílicos, cuya única ventaja es la pureza que se puede alcanzar pero por contra generan etanol que puede ser tóxico a dosis elevadas.

DHA TG QUÍMICO	ALGATRIUM PLUS
• pH extremos • Temperaturas altas (destilación) • Reactivos químicos	• pH fisiológico • Temperaturas bajas • Sin reactivos químicos
• Nivel bajo de triglicéridos • Productos de reacción secundarios • Purificación cromatográfica	• Nivel alto de triglicéridos • Sin productos secundarios • No necesita más purificación
• Migración de dobles enlaces • Oxidación de dobles enlaces • Isomerizaciones Cis/Trans	• Preservación de dobles enlaces • No oxidación de dobles enlaces • No isomerizaciones Cis/ Trans

- La **síntesis industrial de triglicéridos** se puede realizar **químicamente o por vía enzimática**. Las diferencias en las condiciones de reacción entre un proceso de síntesis químico y uno enzimático determinarán las calidades finales para cada producto. El uso de métodos tradicionales químicos (separación cromatográfica, destilación molecular, etc.) para producir concentrados de PUFAs omega-3 implican el uso de pHs extremos y de altas temperaturas, que pueden destruir parcialmente la estructura de los dobles enlaces todos cis del PUFA omega-3 natural por oxidación, isomerización o migración.
- Por otra parte, **las condiciones suaves** (temperatura menor de 50°C, pH 6-8, y menos productos químicos) usadas **en la hidrólisis enzimática proporcionan un alternativa prometedora** que podría también **ahorrar energía y aumentar la selectividad del producto**. La preservación de los enlaces dobles, conferirá a la molécula una **mayor bioactividad**.

ESPECIFICACIÓN	UNIDADES	LÍMITES
Acidez	mg KOH/g	3.0 máx.
Contenido antioxidante	g/100g	1.0 - 1.1
Densidad a 20°C	Kg/l	0.930 - 0.940
Ácido graso DHA (C22 :6n3)	%FA	70 mín.
Ácido graso DPA (C22 :5n3)	%FA	8 máx.
Ácido graso EPA (C20 :5n3)	%FA	10 máx.
Ácidos grasos Omega-3	%FA	85 mín.
Índice de Peróxidos	meq O ₂ /Kg	5.0 máx.
Residuo seco	g/100g	0.10 máx.

Especificaciones del aceite omega-3 utilizado en estos estudios.

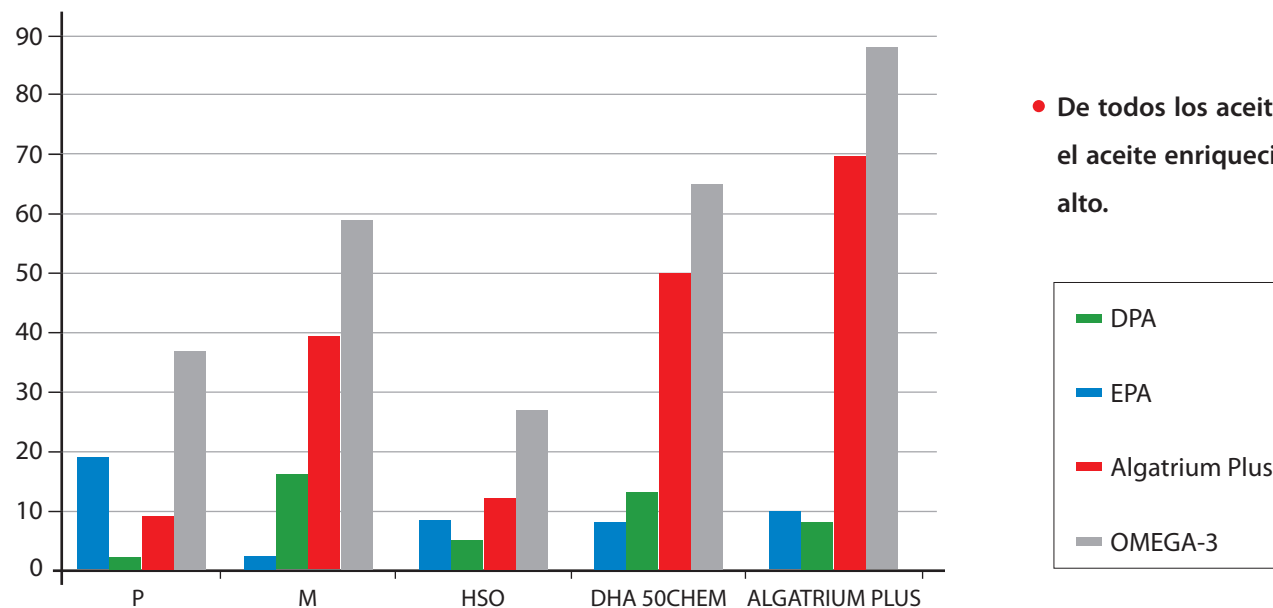
- Muchos estudios demuestran que la bioactividad de los aceites omega-3, y principalmente del DHA, está relacionada directamente con su contenido respecto a los ácidos grasos totales, los cuáles pueden competir con los omega-3 en un metabolismo concreto. Para obtener el máximo nivel de bioactividad, Brudy ha dirigido sus esfuerzos en dos objetivos básicos:

- Tener el máximo contenido de DHA en el triglicérido.
- Reducir al máximo el contenido de EPA.

- Además, este aceite cumple todos los requisitos legales en cuanto a índice de peróxidos, acidez, contenido antioxidante, nivel de metales pesados...



ALGATRIUM PLUS



- De todos los aceites que hay en el mercado, Algatrium Plus (DHA 70e) es el aceite enriquecido con un contenido en omega-3 global y en DHA más alto.

Comparativa de diferentes aceites omega-3 en el mercado.

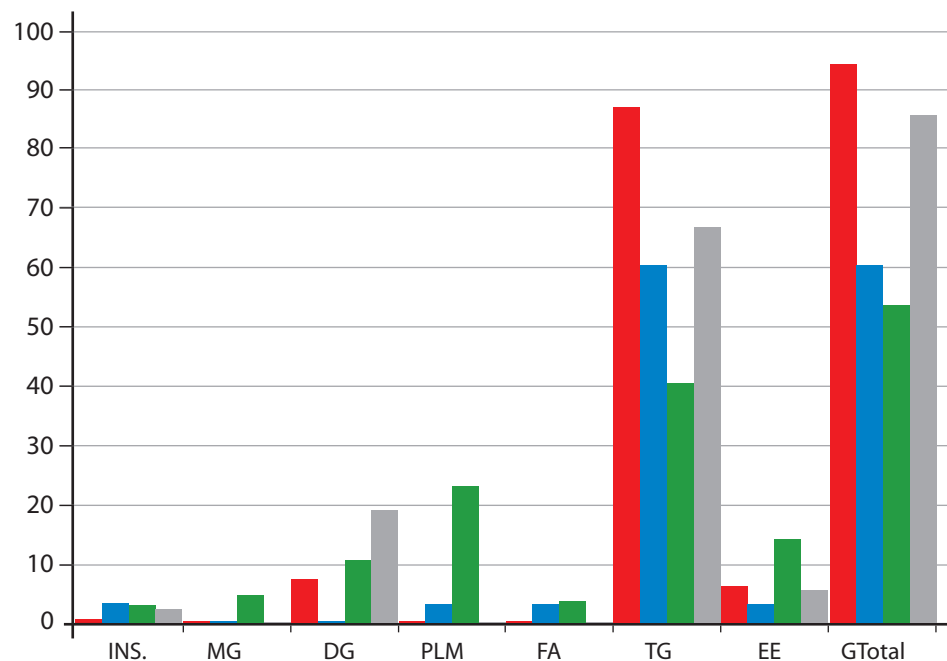
OMEGA-3	% OMEGA-3	SÍNTESIS	INSA	MG	DG	CHOL	PLM	TG	EE	G _{TOTAL}
A. PLUS	70	ENZIMÁTICO	0,5	n.d.	7,1	n.d.	n.d.	86,5	5,9	93,6
FISH	20	ATÚN	4,7	n.d.	2,2	4,2	n.d.	88,9	n.d.	91,1
DHA	50	QUÍMICO	2,7	4,3	10,3	3,5	22,8	40,1	14,0	53,2
DHA	50	QUÍMICO-PURIFICADO	2,1	n.d.	18,8	n.d.	n.d.	66,4	5,2	85,2

Especificaciones del aceite omega-3 utilizado en estos estudios.

- La biodisponibilidad del aceite es directamente proporcional al tipo de moléculas que lo compongan, concretamente a su composición lipídica. Los aceites naturales contienen más del 90% de materia en forma de glicérido, que proporciona una biodisponibilidad máxima. **Algatrium Plus es muy similar a un aceite natural** (la composición lipídica incluye un

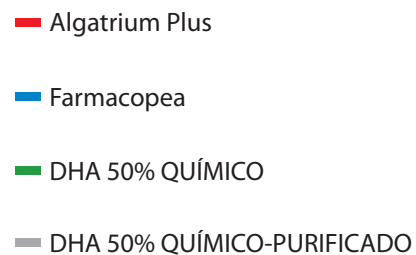
90% de glicéridos totales, con un 85% en forma de triglicéridos y sin monoglicéridos). El DHA obtenido químicamente tiene un nivel bajo de triglicéridos (<50%), un mayor nivel de ésteres etílicos y un alto contenido de polímeros (15-20%), que no son absorbibles y que se deben eliminar por cromatografía en columna (QUÍMICO-PURIFICADO).

LEGISLACIÓN



Composición estructural.

- Solamente los aceites de pescado o de algas naturales que no se han rees-terificado satisfacen la legislación alimentaria en cuanto a su composición, y por lo tanto son un alimento. El DHA obtenido químicamente no satisface los requisitos de la farmacopea europea, sobretudo relacionado con el nivel de triglicéridos, glicéridos totales y en el contenido en compuestos poliméricos. Es necesaria una purificación por cromatografía en columna para que el producto cumpla los requisitos de la legislación europea. **Algatrium Plus tiene la misma composición que los aceites naturales y por lo tanto se consideran un alimento.**



ACTIVIDAD ANTITUMORAL

COMPOSICIÓN		IC ₅₀ (μM)			RELACIÓN DE SEGURIDAD
		CÉLULAS SANAS		CÉLULAS TUMORALES	
ESTRUCTURA	%DHA	PIEL	RENAL	HeLa	
FA	70	123,1 ±9,0	n.d.	72,2 ±5,8	1,7
EE	70	566,3 ±53,9	72,6 ±8,3	71,0 ±9,7	7,98 -1,02
TG (Algatrium Plus)	70	716,7 ±41,9	392,7 ±37,5	58,6 ±8,8	12,23 -6,70
TG (Químico)	50	1956,0 ±27,8	413,6 ±25,6	564,0 ±69,6	3,47 -0,73
TG (Pescado)	20	2267,6 ±27,9	3116,0 ±158,2	1379,4 ±286,4	1,64 -2,26

Efectos del contenido en DHA y de la estructura química. Toxicidad celular.

- Para valorar la actividad de Algatrium Plus, nuestro primer objetivo fue determinar su capacidad citotóxica antitumoral. En este sentido realizamos un estudio comparativo usando células tumorales (HeLa) y células sanas como control (renales y de piel). Hemos realizado estudios dosis-respuesta para determinar el valor de IC₅₀ como criterio de toxicidad (es la concentración que mata al 50% de las células). Hemos analizado dos variables, el efecto de la estructura del lípido y del contenido en DHA. Para un contenido en DHA del 70% de todos los ácidos grasos, se obtuvo la misma toxicidad en células tumorales con el éster etílico (EE), el ácido graso libre (FA) o

el triglicérido (TG). Pero, en células renales sanas, el EE tiene la misma toxicidad que en las células tumorales y en las células de piel, el FA demuestran una gran toxicidad, siendo los TG, la forma con un mejor cociente de seguridad. Para una misma estructura química, el TG, una disminución del contenido en DHA a 50 o al 20% (este último es la concentración en el aceite de pescado), disminuye de forma dramática el efecto citotóxico en las células del tumor. Estos resultados demuestran que la forma óptima es el triglicérido con un alto contenido en DHA (Algatrium Plus).

(ACTIVIDAD COMO ADYUVANTE ANTITUMORAL)

LÍNEA CELULAR	SISTEMA DE ADICIÓN	ALGATRIUM PLUS μM	IC ₅₀ (μM)
HeLa-Epitelial (Dox)	Control	0	295,3 $\pm$ 31,6 (n=8)
	Pre-incorporado	1	30,1 $\pm$ 5,4 (n=8)
		5	28,7 $\pm$ 6,7 (n=8)
		10	37,0 $\pm$ 4,4 (n=6)
	Simultáneo	5	184,3 $\pm$ 16,2 (n=4)
HT-29-Colon (5-FU)	Control	0	23.30 $\pm$ 3.68 (n=12)
	Pre-incorporado	1	2.80 $\pm$ 1.10 (n=7)
		5	2.38 $\pm$ 1.01 (n=4)
		10	3.80 $\pm$ 1.42 (n=6)
	Simultáneo	5	14.80 $\pm$ 8.01 (n=6)

Efecto del DHA sobre la actividad antitumoral de la Doxorrubicina o del 5-fluorouracilo. Toxicidad celular.

- Otra actividad interesante de los **PUFAs omega-3** en cáncer, es su uso **como adyuvantes en la quimioterapia convencional**. En este sentido, determinamos los efectos de Algatrium Plus a concentraciones subtóxicas sobre la toxicidad de la Doxorrubicina y del 5-fluorouracilo. La exposición simultánea de las células tumorales al DHA y a la droga aumenta la toxicidad de la misma dos veces (disminuye el valor de la IC50). Por otra parte, si Algatrium Plus se ha incorporado previamente a la membrana celular, este efecto potenciador aumenta hasta 10 veces.

CONTENIDO EN DHA	DHA (μM)	IC ₅₀ (nM)	
		CÉLULA TUMORAL	CÉLULA SANA
Control	0	295,3 $\pm$ 31,6	1158,6 $\pm$ 369,9
DHA Algatrium Plus	5	28,7 $\pm$ 6,7	1046,6 $\pm$ 230,4
	10	37,0 $\pm$ 4,4	1080,5 $\pm$ 174,2
DHA TG 50 Químico	5	130,9 $\pm$ 15,6	1163,3 $\pm$ 156,9
	10	106,3 $\pm$ 20,7	980,1 $\pm$ 270,9
DHA TG 20 Pescado	5	257,4 $\pm$ 29,6	1157,5 $\pm$ 124,9
	10	236,5 $\pm$ 15,7	1530,3 $\pm$ 481,3

Efecto del contenido en dha sobre la actividad antitumoral de la doxorrubicina. Toxicidad celular.

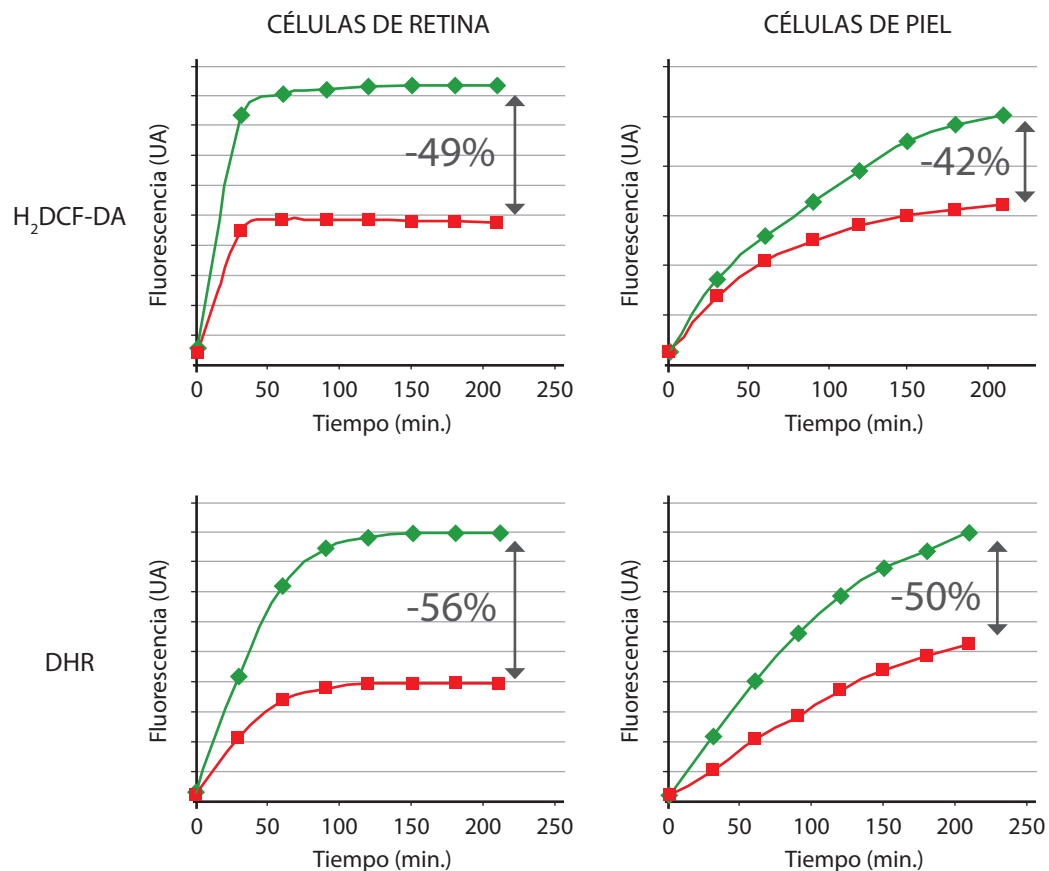
- Este efecto potenciador depende del contenido en DHA, ya que con el uso de un aceite químico (50% en DHA) o de aceite de pescado (20% en DHA), se pierde progresivamente dicho efecto potenciador. También es significativo que este efecto no incrementa la toxicidad de los citostáticos en células sanas.

¿ACTIVIDAD PRO-O ANTIOXIDANTE?

- En los sistemas químicos puros, las moléculas más susceptibles al ataque de los radicales libres son los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) como el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3) y, en general, esta susceptibilidad aumenta con el número de dobles enlaces. In vivo, se supone el mismo comportamiento.
- Entonces, ¿por qué el DHA, una diana molecular de los radiaciones libres, es el ácido graso más abundante en tejidos expuestos a un potencial estrés oxidativo como la retina o en tejidos con un sistema antioxidante celular deficiente como el sistema nervioso central?

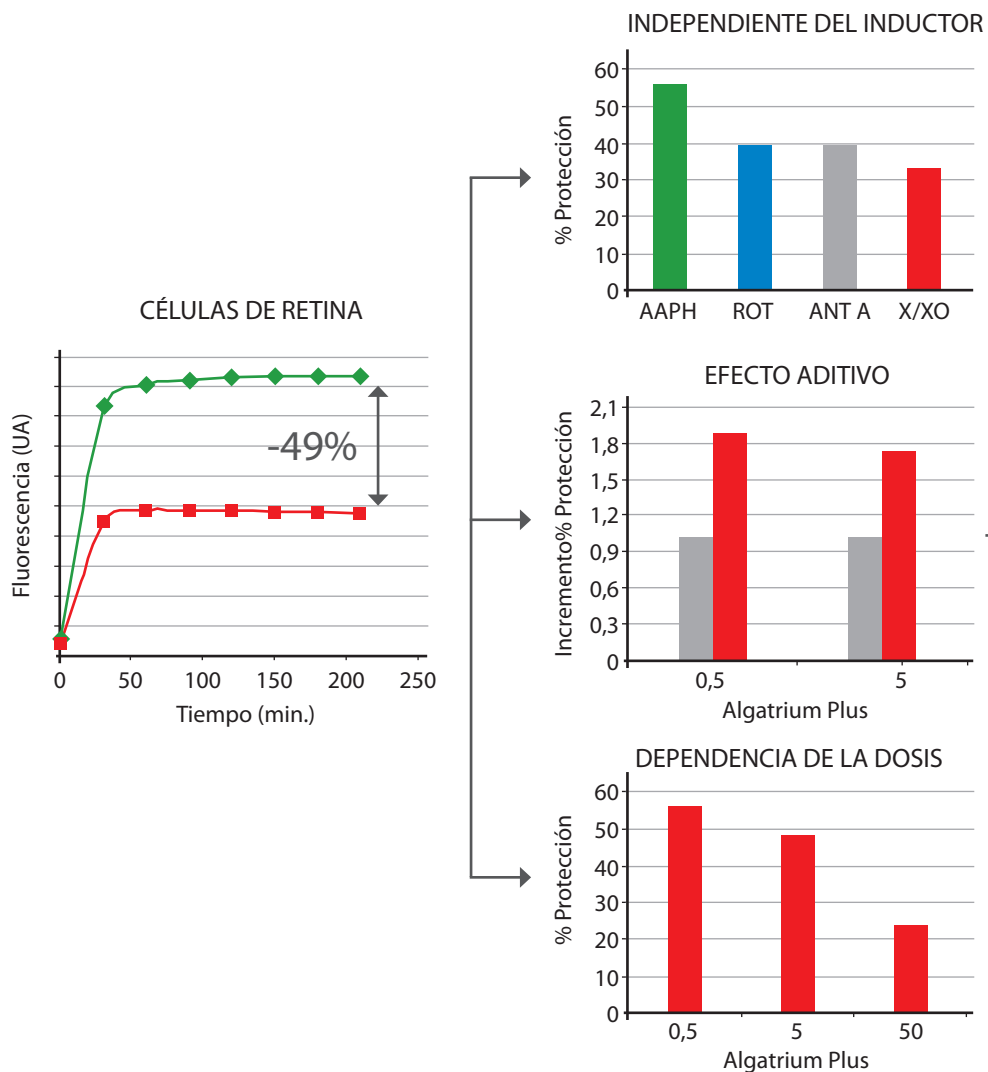
- En este contexto, hemos estudiado la influencia de la presencia del DHA enzimático en la membrana celular, sobre la generación intracelular de radicales libres utilizando como **sistema experimental** dos líneas celulares humanas sanas, fibroblastos de piel (**Foreskin**, ATC CRL 2076) y células epiteliales pigmentarias de la retina (**ARPE-19**, ATCC CRL 2302).
- La cuantificación de los radicales libres generados se ha realizado mediante **metodologías fluorescentes** usando sondas moleculares como el **H₂DCF-DA**, **DHR** y **DHE**.
- Como inductores exógenos de estrés oxidativo se ha utilizado el **AAPH** y el **sistema xantina/xantin oxidasa**, y como inductores endógenos, **la rotenona** y **la antimicina A**.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CELULAR



- Como se muestra en la figura, la **presencia de Algatrium Plus en la membrana celular disminuye la generación intracelular de radicales libres después de estar sometidas las células a un estrés oxidativo.** Este **comportamiento es independiente** de la célula en estudio (piel o retina) y del marcador utilizado (H2DCF-DA o DHR), lo cual **nos indica la activación de un mecanismo general.** El nivel de protección observado también es similar frente al mismo estímulo oxidativo.

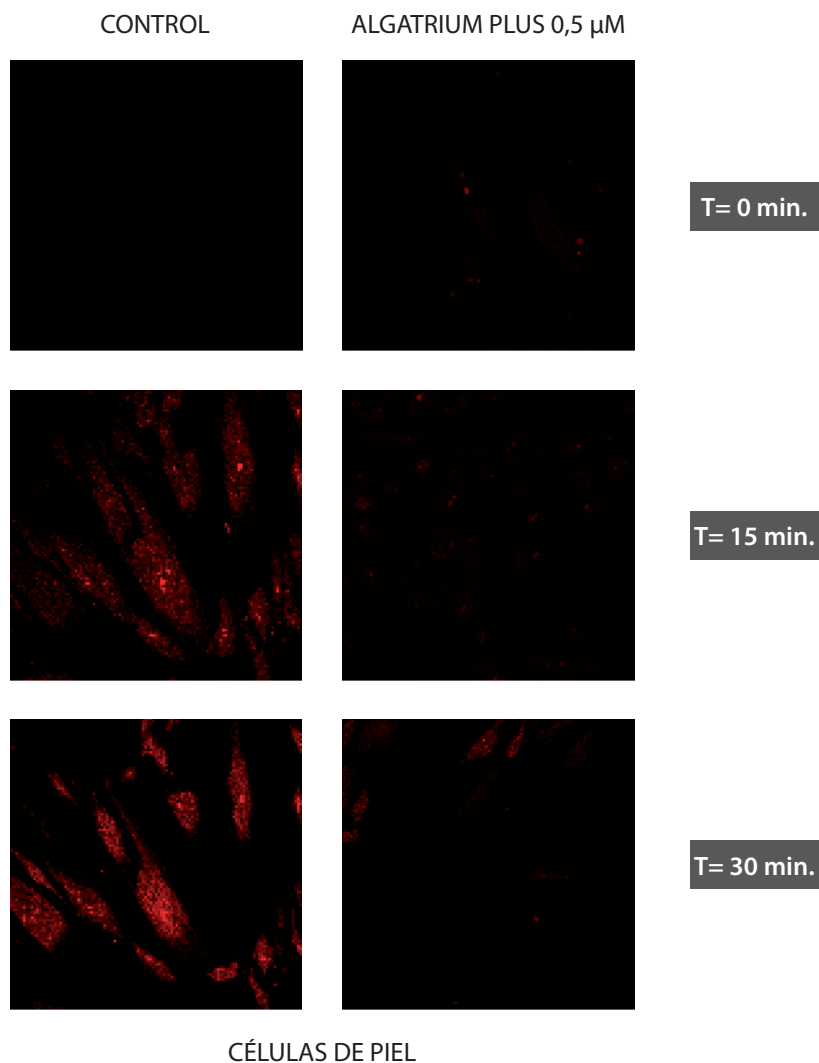
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CELULAR



- Para determinar que la protección antioxidante de Algatrium Plus era un proceso general, cambiamos el inductor de estrés oxidativo de un producto químico (el AAPH) a un sistema enzimático (sistema X/XO) o inductores endógenos (ROT y ANT A). Se ha observado **el mismo comportamiento en todos los casos**.
- El efecto antioxidante de Algatrium Plus depende de la dosis, mostrando un **comportamiento dosis-dependiente a la inversa**. El mayor efecto se ha observado en una concentración baja de DHA, mientras que a altas concentraciones, el efecto antioxidante disminuye independientemente de la potencia del estrés oxidativo.
- También, el efecto antioxidante de Algatrium Plus presenta un **efecto aditivo con la frecuencia de la administración**. La administración de una dosis diaria incrementa el efecto antioxidante respecto a una sola administración.

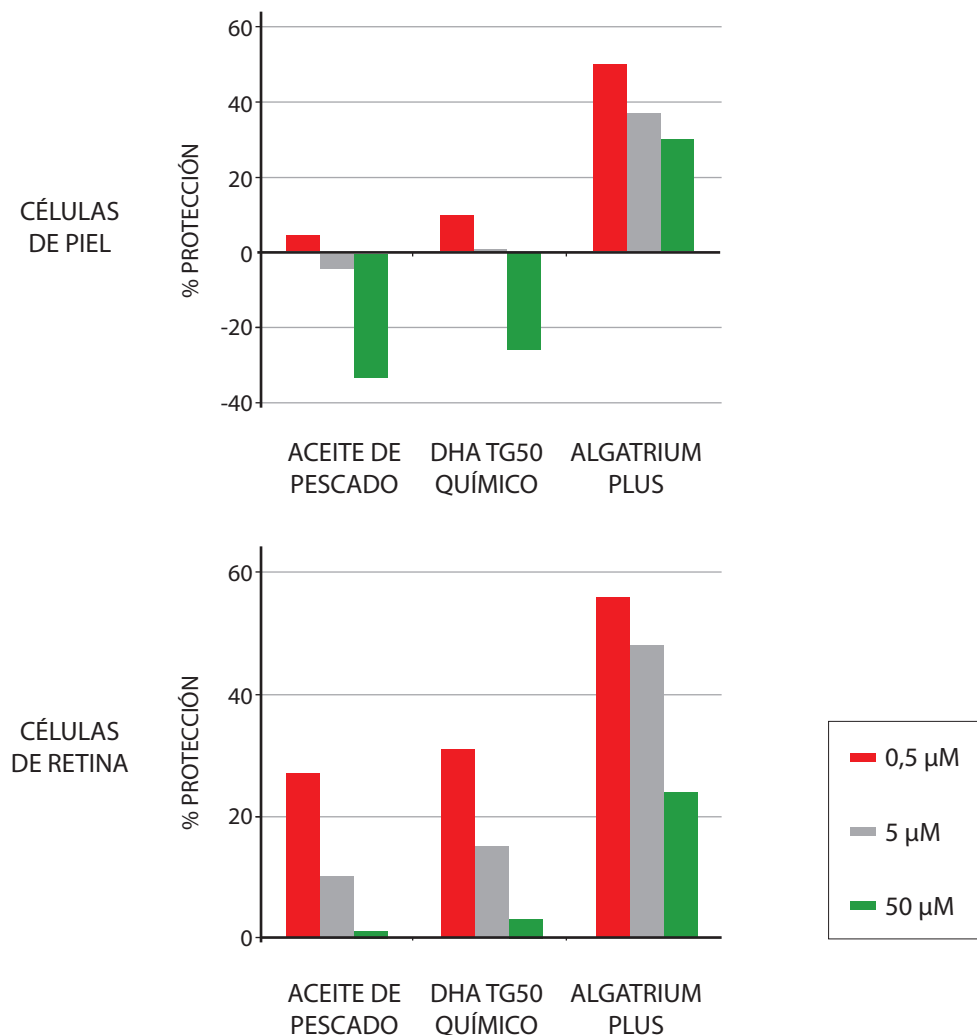
— Dosis diaria
— Una dosis

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CELULAR



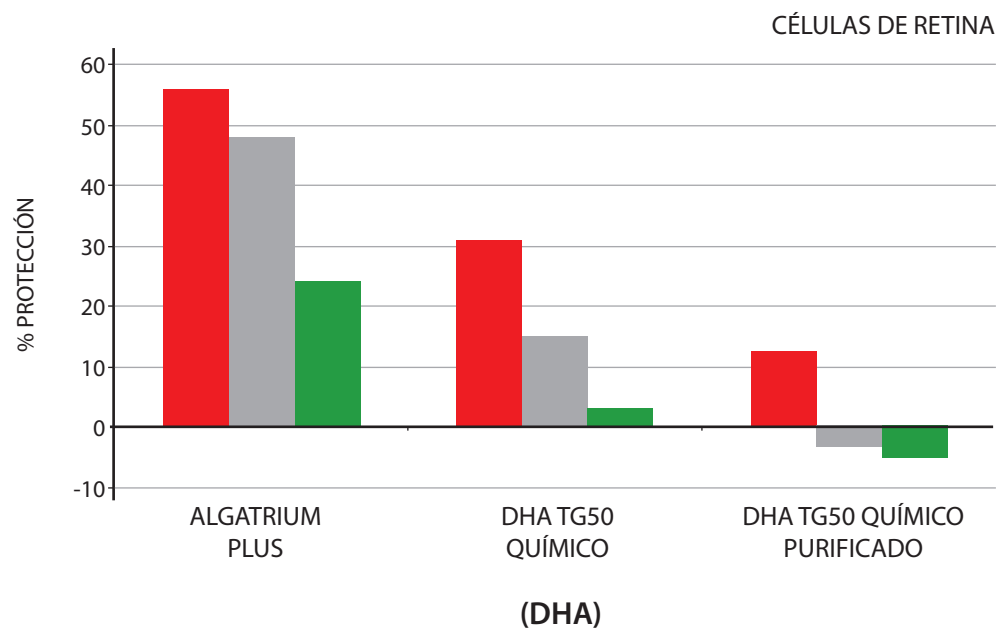
- La generación intracelular de radicales libres se confirmó mediante microscopia de fluorescencia confocal. Las micrografías muestran una **acumulación progresiva en el tiempo de radicales libres en las células control sin DHA**, mientras que **en las que han incorporado Algatrium Plus en su membrana, el nivel intracelular de radicales libres no ha aumentado.**

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CELULAR



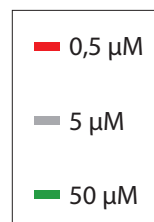
- A nivel celular, la generación de radicales libres parece ser dependiente de la composición en ácidos grasos de la célula, pero la influencia específica de cada clase de ácido graso no ha sido estudiada.
- Por otra parte, a nivel industrial, **el método de síntesis usado para obtener el aceite enriquecido en DHA puede ser muy importante en la calidad final del producto.** En este sentido hemos estudiado la importancia del contenido de DHA y del origen sintético en el efecto antioxidante.
- Como se puede observar en la figura, una disminución del contenido en DHA al 50% (origen químico) o al 20% (aceite de pescado) de los ácidos grasos totales, induce una disminución del efecto antioxidante en las células de retina, aunque en ningún caso llega a ser pro-oxidante. Sin embargo, en células de piel, esta reducción es tan acusada que sólo Algatrium Plus es antioxidante, siendo los otros dos pro-oxidantes.
- Dado el carácter multifactorial de un tratamiento nutricional, no es aconsejable administrar un producto que presente actividades divergentes en función del tejido al que se incorpore.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CELULAR

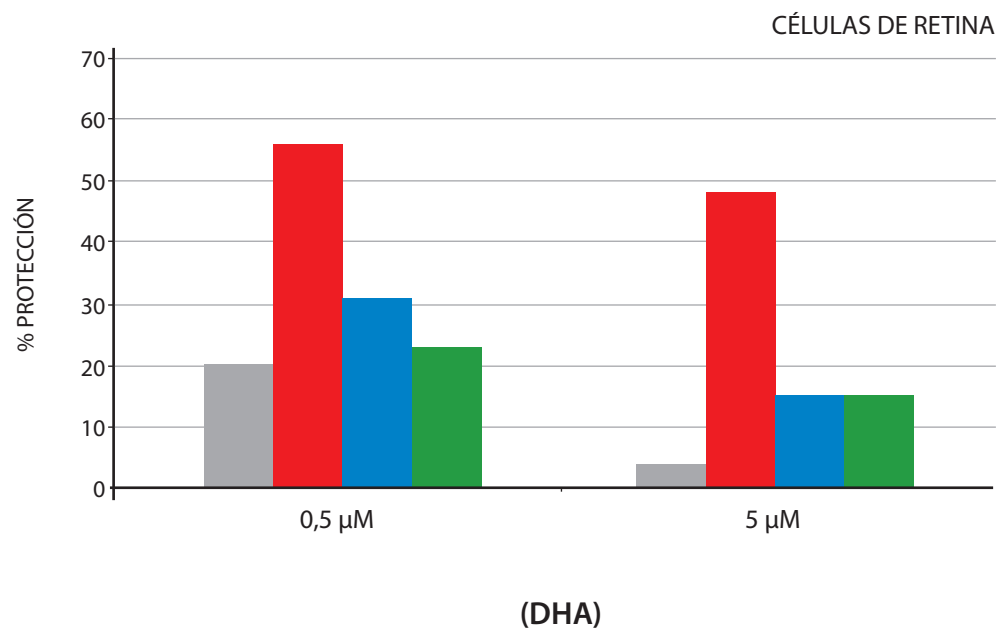


DHA químico vs. Algatrium Plus.

- Si la baja actividad del aceite de origen químico (50% en DHA), pudiera estar relacionado con la presencia de estructuras poliméricas, su eliminación por cromatografía en columna debería permitir recuperar su actividad antioxidante. Como se puede observar en la figura, **una manipulación excesiva del producto original para eliminar contaminantes o para mejorar sus características organolépticas se traduce en una pérdida de bioactividad.**



ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CELULAR



Efecto de la estructura química Fa vs. Ee vs. Tg

- La actividad antioxidante del Algatrium Plus, también esta relacionada con su mayor biodisponibilidad ya que un éster etílico o un ácido graso libre con el mismo contenido en DHA, presenta una actividad antioxidante como máximo la mitad de la de Algatrium Plus.

FA-BSA

Algatrium Plus

TG 50 CHEM

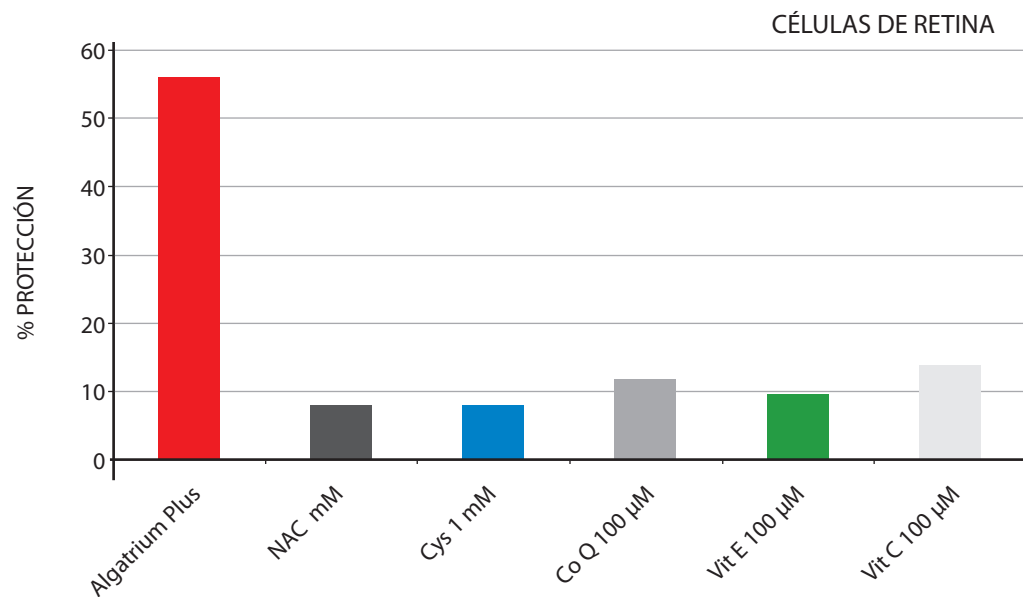
EE 70

FA: Ácido graso libre

EE: Éster etílico

TG: Triglicérido

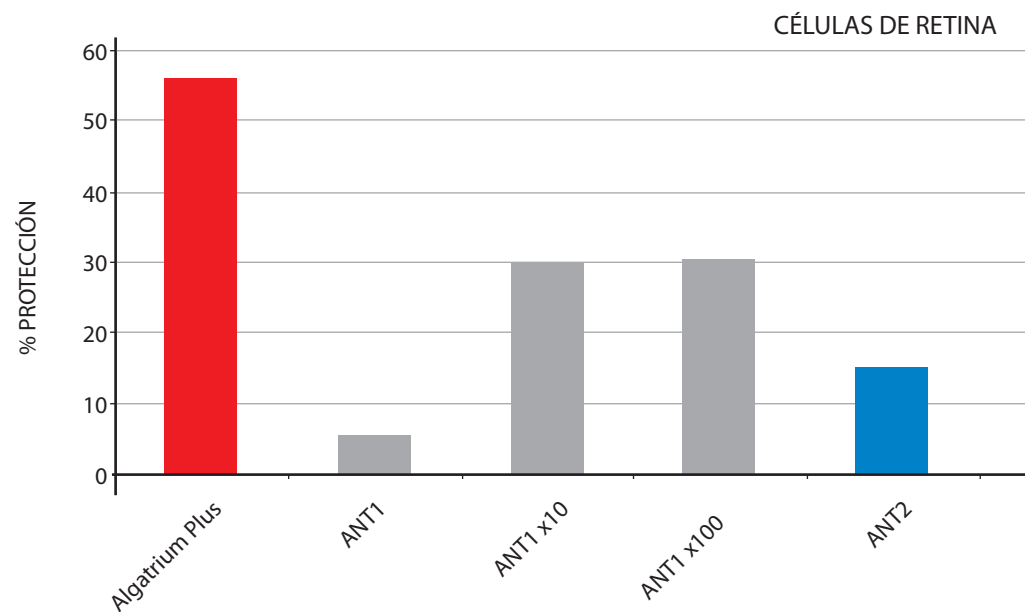
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CELULAR



Alga-trium Plus vs. antioxidantes

- Comparado con los antioxidantes normalmente utilizados en tratamientos oculares a las concentraciones óptimas descritas, Alga-trium Plus presenta a todas las dosis estudiadas un efecto superior.

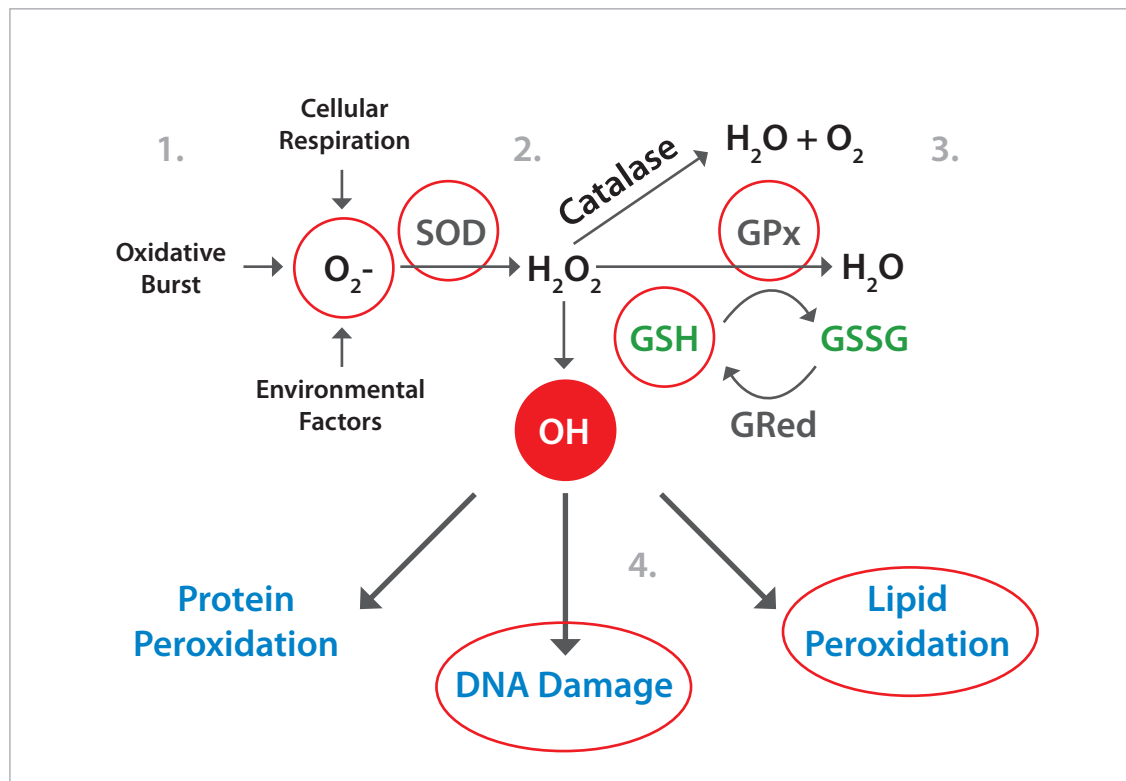
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CELULAR



- Incluso si estos antioxidantes se combinan o se incrementa su concentración 10 ó 100 veces.

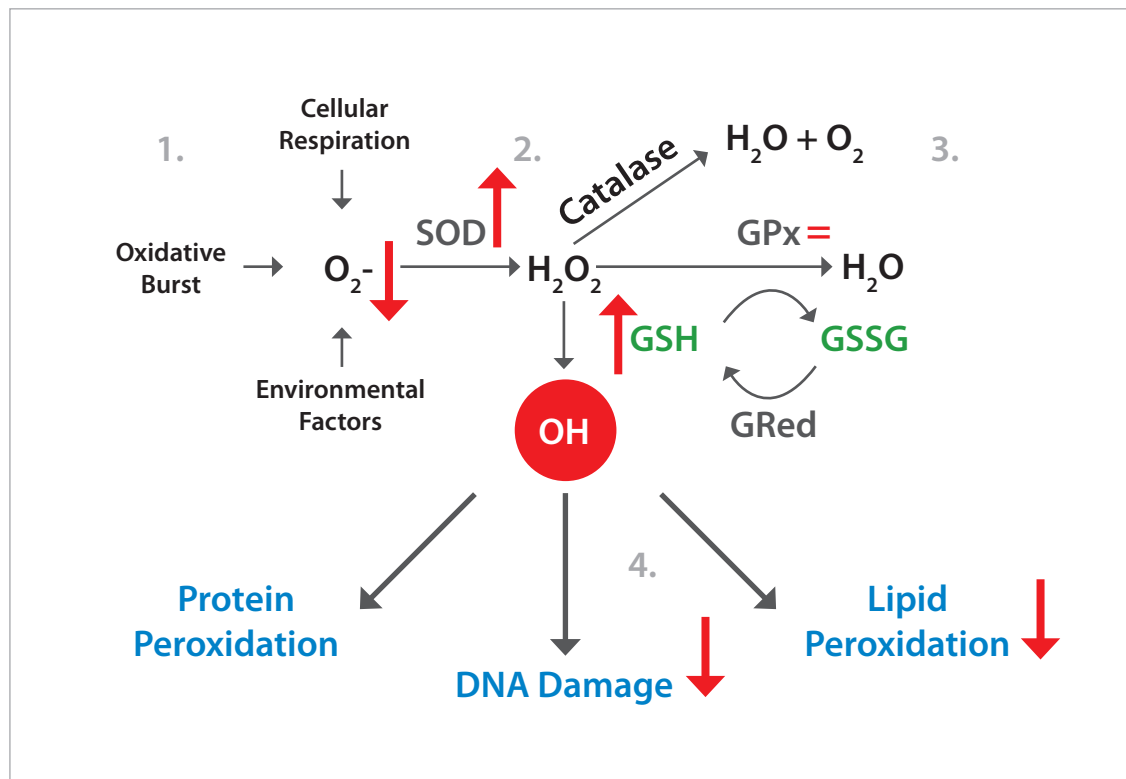
AlgaTrium Plus vs. antioxidantes

- En este punto, la cuestión es: ¿Cuál es el mecanismo por el cual el Algatrium Plus ejerce este efecto antioxidante tan potente?
- Los Omega-3 pueden actuar a diferentes niveles en la fisiología celular. La defensa antioxidante celular se basa en la actividad de un número de enzimas antioxidantes, junto con otros antioxidantes químicos; conjuntamente previenen la peroxidación lipídica, la proteica y el daño en DNA. Hemos estudiado el efecto de Algatrium Plus en diversos aspectos del sistema antioxidante celular:
 - Generación del anión superóxido (O_2^-)
 - La actividad superóxido dismutasa (SOD) y de la glutatión peroxidasa (GPx)
 - La concentración intracelular de glutatión (GSH)
 - La peroxidación lipídica.
 - Y el daño en DNA.



Mecanismo de actividad antioxidante.

+ **Algatrium^{plus}**
DHA 700 Antioxidante Celular



Mecanismo de actividad antioxidante.

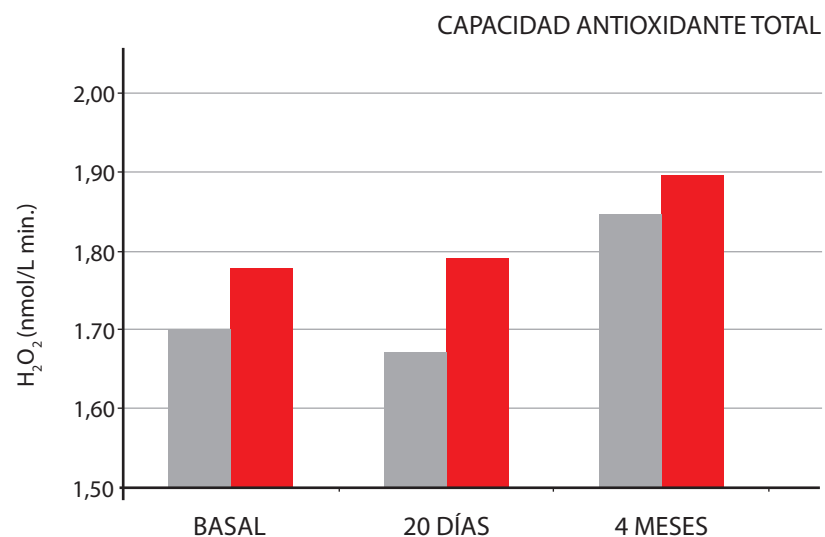


- Hemos encontrado que la incorporación de Algatrium Plus en las células disminuye la generación del anión superóxido, la peroxidación lipídica de una manera dosis-dependiente inversa y el daño en DNA.
- Los niveles inferiores del anión superóxido bajo estrés oxidativo en células tratadas con Algatrium Plus puede ser debido a la actividad más alta de la SOD respecto al control.
- Por otra parte, la actividad de la GPx en las células tratadas no era diferente de las células control con o sin estrés oxidativo.
- El cambio más significativo fue el incremento (300%) de la concentración intracelular de GSH, relacionado con un incremento de la síntesis de novo.
- Estos resultados nos indican que **Algatrium Plus ejerce su efecto antioxidante mediante un incremento de la actividad del sistema antioxidante celular, sin una participación directa en el mismo que lo diferencia de los antioxidantes químicos convencionales.**
- Esto sugiere que las células toleran cantidades pequeñas de DHA y que éste actúa a modo de estímulo para evitar cualquier acumulación de radicales libres, la incorporación de Algatrium Plus en las biomembranas provoca una respuesta celular antioxidante adaptativa.

(ESTUDIOS *IN VIVO*)

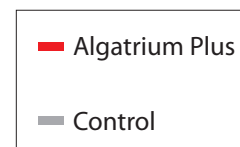
- Para dar credibilidad a los resultados obtenidos *in vitro* es necesario una constatación de los mismos *in vivo*. En este sentido se ha desarrollado un ensayo clínico, controlado cruzado de 4 meses de duración (N = 40 deportistas), a una dosis de 2 g/día de Algatrium Plus.
- Las variables a estudiar fueron el daño en DNA y parámetros antioxidantes séricos.
- Para valorar la acción de Algatrium Plus, se utilizó como modelo de estrés oxidativo el inducido por el ejercicio físico aerobio.
- Se sometió a deportistas a un esfuerzo continuado al 75% de su consumo máximo de oxígeno durante 90 minutos, lo cual supone una producción suficiente de radicales libres y estrés oxidativo como para conocer la capacidad antioxidante de cualquier manipulación dietética.

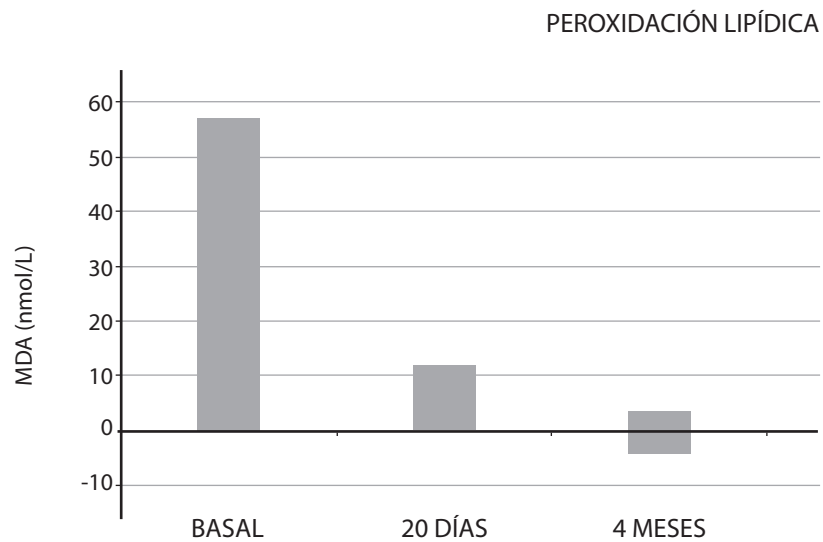
(ESTUDIOS *IN VIVO*)



Parámetros antioxidantes in vivo.

- Se observó un aumento estadísticamente significativo en la capacidad antioxidante total del serum ($p < 0,05$) antes y después de la realización de las pruebas rectangulares en los deportistas que habían ingerido Alga-trium Plus durante un periodo de tres semanas a cuatro meses.

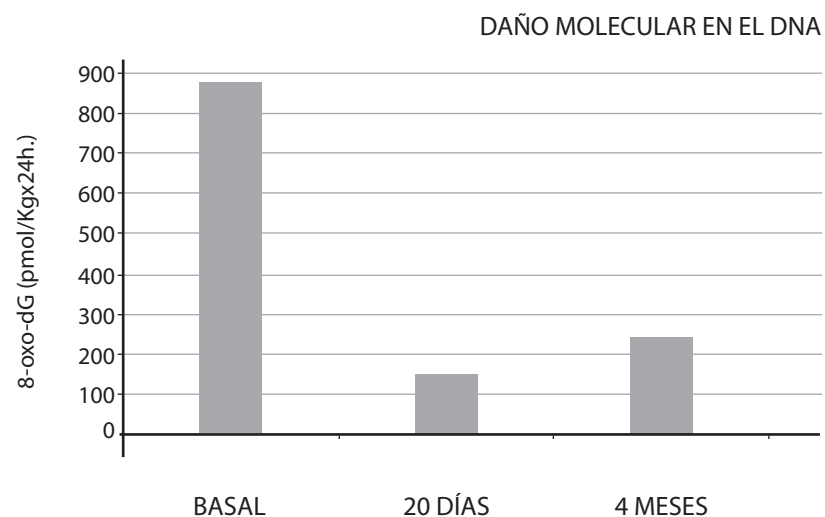




Parámetros antioxidantes in vivo.

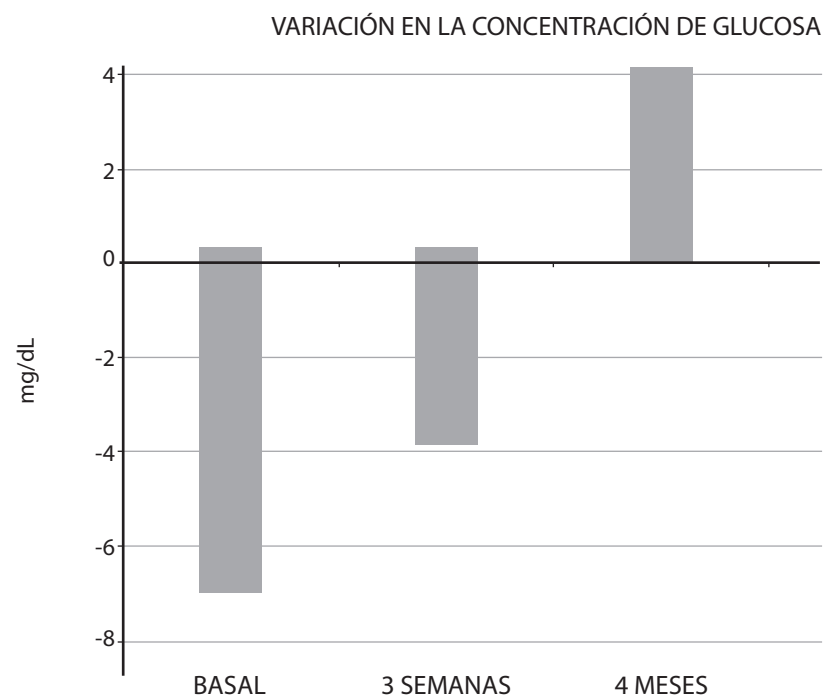
- El nivel plasmático de MDA como índice de peroxidación lipídica fue aumentando durante la realización de todas las pruebas de esfuerzo ($p < 0,035$). Después de la ingesta de Algatrium Plus durante 3 semanas, el daño oxidativo a nivel lipídico en las mismas condiciones disminuye prácticamente a nivel basal ($p < 0,05$); observándose a los 4 meses de tratamiento un efecto protector en esta variable.

ESTUDIOS *IN VIVO*



Parámetros antioxidantes in vivo.

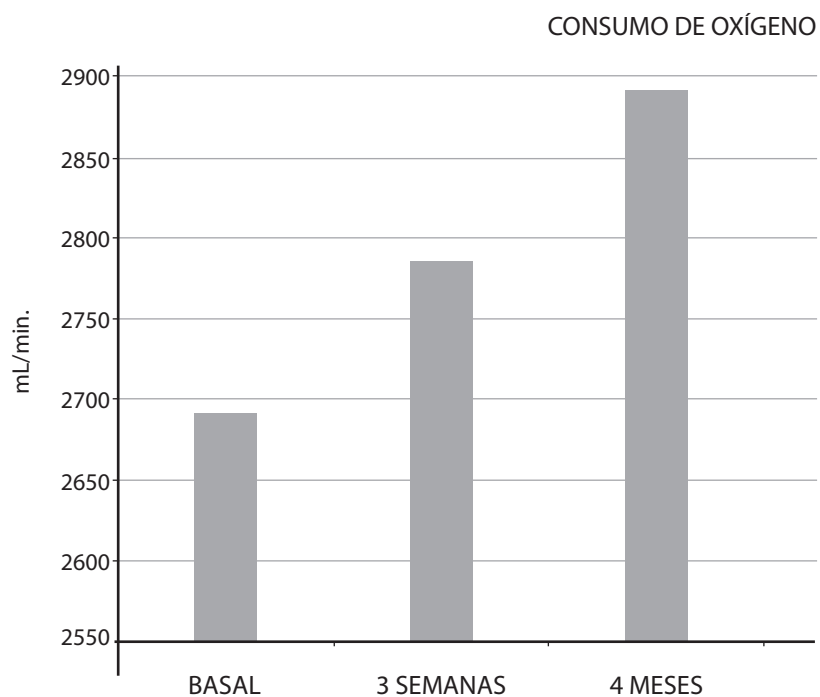
- Hay un aumento en el daño oxidativo del DNA durante la realización de las pruebas rectangulares del esfuerzo medidas como el nivel de 8-oxo-dG en la orina ($p < 0,011$). La ingesta de Algatrium Plus durante 3 semanas y hasta 4 meses protege el DNA del daño oxidativo inducido por el esfuerzo de una manera significativa ($p < 0,035$).



Variables fisiológicas de rendimiento deportivo.

- Como efectos colaterales en el rendimiento deportivo se ha observado que los niveles de glicemia disminuyen durante la realización de la prueba rectangular de esfuerzo ($p < 0,0009$). Esta reducción en la glicemia era menor después de 3 semanas de ingesta de Algatrium Plus se traducía en un aumento del nivel de glicemia a los 4 meses de tratamiento con Algatrium Plus.

(ESTUDIOS *IN VIVO*)



Variables fisiológicas de rendimiento deportivo.

- También se ha observado un aumento significativo del consumo absoluto ($p < 0,019$) y relativo ($p < 0,036$) de oxígeno determinado en el umbral del esfuerzo triangular con la ingesta de Algatrium Plus hasta 4 meses.
- Estos resultados parecen indicar que **la ingesta de Algatrium Plus puede incrementar el rendimiento deportivo.**

(CONCLUSIONES)

- Los ácidos grasos omega-3 son un concepto vigente tanto desde un punto de vista nutricional como terapéutico con un alto potencial de desarrollo.
- La aplicación de los ácidos grasos omega-3 en estos campos requiere de productos manufacturados de acuerdo con los estándares que se aplican a productos farmacéuticos que incluyen controles de calidad para asegurar su pureza y calidad estructural que condiciona su bioactividad. Como estándar es exigible una riqueza mínima superior al 65% en una estructura química muy biodisponible como un triglicérido.
- La incorporación de Algatrium Plus en las membranas celulares no sólo no promueve la peroxidación lipídica sino que actúa como un activador del sistema antioxidante celular probablemente como consecuencia de una respuesta adaptativa de la célula.

INFORMACIÓN LEGAL

- ALGATRIUM es una Marca Internacional propiedad de BRUDY TECHNOLOGY.
- El uso de DHA de alta concentración para el tratamiento de enfermedades tumorales está protegido por la Patente Internacional nº200501141 Propiedad de BRUDY TECHNOLOGY.
- La comercialización y el uso de Omega-3 Antioxidantes está protegido por la Patente Internacional nº200503202 propiedad de BRUDY TECHNOLOGY.



BRUDYTECHNOLOGY®
Advancing the Science of Omega 3

Fabricado en España por: Brudy Technology - C/Riera de Sant Miquel, 3 - 2º 4ª - 08006 Barcelona - Tel. 93 217 03 66