

ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3: RESPUESTA INMUNE Y SU EFECTO SOBRE ALGUNAS ENFERMEDADES.

OMEGA 3 FATTY ACIDS: IMMUNE RESPONSE AND ITS EFFECT ON CERTAIN DISEASES.

OMEGA 3 OS ÁCIDOS GORDOS: RESPOSTA IMUNE E SEU EFEITO SOBRE CERTAS DOENÇAS.

Autores: María Soledad Calvo Pesce (1), Silvia Mónica Delgado D'Agostini (2).

Recibido: 11/03/2014

Aceptado: 21/06/2014

RESUMEN

Es reconocido el efecto sobre la respuesta inmune que tienen los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 y n-3.

El objetivo de esta revisión es investigar la importancia de los derivados de los ácidos grasos omega 3 (eicosanoides), su efecto sobre la inmunidad y su acción sobre algunas enfermedades inmunes e inflamatorias. Las series n-6 y n-3 son distintas desde el punto de vista estructural y funcional dando origen a productos con diferente actividad biológica. A través de reacciones enzimáticas el ácido linoleico es precursor de prostaglandinas de la serie 2 y leucotrienos de la serie 4, ambos potentes proinflamatorios. En cambio, el ácido alfa-linolénico forma prostaglandinas de la serie 3 y leucotrienos de la serie 5, compuestos con acción antiinflamatoria.

Se está investigando además la acción de otros eicosanoides como lipoxinas, resolvinas y protectinas, entre otros.

La proporción en que los eicosanoides se producen depende de la cantidad de sustrato disponible, lo que influye en que la respuesta sea proinflamatoria o antiinflamatoria.

Las recomendaciones específicas de dosis de consumo de n-3 para las patologías inflamatorias y autoinmunes aun no se conocen con precisión. Se requiere una mayor cantidad de trabajos investigativos al respecto.

La unidad de análisis del presente trabajo es la revisión de las últimas evidencias científicas relacionadas con el tema.

Palabras clave: Ácidos grasos Omega-3, Eicosanoides, Sistema inmune, Inflamación.

ABSTRACT

It is known that n-3 and n-6 PUFAs (polyunsaturated fatty acids) have effect on the immune response. The aim of this review focuses on research on the importance of the derivatives of n-3 PUFAs (eicosanoids), its effect on immunity and its effect on autoimmune and inflammatory diseases. These two types of fatty acids are different from the structural point of view and also from the functional point of view.

So, they result in products with different biological activity. Through enzymatic reactions, the linoleic acid is a precursor of potent proinflammatories: 2-prostaglandins and 4-leukotrienes. In contrast, the alpha-linolenic acid is a precursor of 3-prostaglandins and 5-leukotrienes (both of them: anti-inflammatories). It is also being studied the action of other eicosanoids such as lipoxins, resolvins and protectins. The proportion in which the eicosanoids are produced depends on the amount of substrate available.

This influences if the response is proinflammatory or antiinflammatory. The specific dose recommendations of consumption of n-3 PUFAs for inflammatory and autoimmune diseases is not yet known with precision, so that it becomes evident the need for more work on this topic.

The unit of analysis of this paper is to review the latest scientific evidence related to the topic.

(1) Licenciada en Nutrición, Diplomada en Abordaje Integrativo en Salud. Universidad Católica del Uruguay - Montevideo. solcalvo@ucu.edu.uy

(2) Licenciada en Nutrición, Diplomada en Abordaje Integrativo en Salud. Universidad Católica del Uruguay - Montevideo.

Keywords: Omega-3 fatty acids, Eicosanoids, Immune system, Inflammation.

RESUMO

Reconhece-se o efeito sobre a resposta imune com os ácidos graxos poliinsaturados da série n - 6 e n - 3.

O objetivo desta revisão é investigar a importância dos derivados de ômega-3 ácidos graxos (eicosanóides), o seu efeito sobre a imunidade e seu efeito sobre algumas doenças imunes e inflamatórias. O n - 6 e n - 3 são diferentes do ponto de vista estrutural e funcional, dando origem a produtos com atividade biológica variada. Através de reações enzimáticas o ácido linoléico é um precursor das prostaglandinas e leucotrienos Série 2 Série 4, dois potentes pró-inflamatórios . Em contraste, a forma do ácido alfa-linolênico prostaglandinas da série 3 e série 5 leucotrienos, compostos com ação anti-inflamatória.

Também estão pesquisando a forma como outros eicosanóides como lipoxinas, resolvins e protectins, entre outros.

A proporção em que os eicosanóides são produzidos depende da quantidade de substrato disponível, o que influencia que a resposta seja pró - inflamatória ou anti-inflamatória.

As recomendações de doses específicas para o consumo de n - 3 para doenças inflamatórias e auto-imunes, não são conhecidas ainda com exactitude, o qual evidencia a necessidade de uma maior quantidade de trabalho nesta área.

A unidade de análise deste trabalho é revisar as últimas provas científicas relacionadas com o tema.

Palavras-chave: Omega-3 os ácidos gordos, Eicosanóides, Sistema imunológico, Inflamação.

INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) se clasifican en tres familias: los omega 9, omega 6 y omega 3. El principal representante de la familia omega 6 (n-6) es el ácido linoleico (C18:2 AL) y el de familia omega 3 (n-3) ácido alfa linoléico (C18:3 ALN). Los mismos son esenciales porque no pueden ser formados por el hombre, a diferencia de los omega 9. Por tanto, estos deben ser aportados en una determinada cantidad y proporción entre ellos (1).

Los aceites vegetales son fuente principalmente de ácidos grasos monoinsaturados (serie omega 9) y poliinsaturados (serie omega 6) y no contienen o solo contienen poca cantidad de omega 3. Existen algunas

excepciones como aceite de canola, chia, linaza y soja con mayor contenido de este ácido graso.

Sin embargo, los ácidos grasos de origen marino se caracterizan por su alto contenido de ácidos grasos omega 3 de cadena larga, siendo los más importantes el eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) (2).

Los pescados magros (merluza, congrio, lenguado, corvina) no aportan más de 2-5% de grasa y los pescados grasos o azules (salmón, atún, sardinas, hígado de bacalao) contienen de un 10-15% de grasa presentando una mayor proporción de EPA y DHA (2)(3).

Según consulta de expertos de FAO (2008) las recomendaciones de consumo de la serie n-6 se ubica entre 2,5 - 9 % y la serie n-3: 0,5 - 2 % del valor calórico total (4). A partir del ALN (omega 3) por medio de reacciones enzimáticas de insaturación y elongación, mediando las enzimas, desaturasa y elongasa se producen principalmente en el hígado, EPA y DHA, mientras que el AL da lugar a la formación de araquidónico (AA 20:4). El EPA, DHA y especialmente el AA son precursores de los eicosanoides, destacándose entre ellos las prostaglandinas (PG), prostaciclina, tromboxanos (TX), leucotrienos (LT) y lipoxinas (LX) (5).

Los eicosanoides son potentes reguladores de la respuesta celular en procesos inflamatorios e inmunológicos, actuando sobre el sistema cardiovascular, respiratorio e inmunitario. Alteran el tamaño y permeabilidad de los vasos sanguíneos y bronquios, varían la actividad plaquetaria con efectos sobre la coagulación sanguínea y modifican los procesos inflamatorios e inmunes (5)(6).

Los n-6 son precursores de las prostaglandinas de la serie 2 (PG2) y leucotrienos de la serie 4 (LT4), siendo activos mediadores de la respuesta inflamatoria (7).

Por otro lado, los n-3 forman prostaglandinas de la serie 3 (PG3) y leucotrienos de la serie 5 (LT5) los que tienen acción anti inflamatoria (7).

La proporción en que los eicosanoides se producen va a depender de la cantidad de substrato disponible, jugando un rol clave la enzima 6- desaturasa lo que influye en que la respuesta sea proinflamatoria o antiinflamatoria. Si bien, esta enzima tiene mayor afinidad por la serie n-3, la serie n-6 es la que predomina en la dieta occidental, favoreciendo los procesos auto inmunes e inflamatorios. Este patrón alimentario contribuye al desarrollo de patologías de alta prevalencia en la población como enfermedades cardiovasculares y cáncer (7).

El objetivo de esta revisión es investigar la importancia de los derivados de los ácidos grasos omega 3 (eicosanoides), su efecto sobre la inmunidad y su acción sobre algunas enfermedades inmunes e inflamatorias.

Se pretende lograr una aproximación teórica al tema, conocer qué se ha investigado y qué aspectos permanecen aún desconocidos en relación a las enfermedades inflamatorias.

METODOLOGÍA

Se realizó una revisión de las principales bases de datos de bibliografía científica biomédica disponibles tales como: BVS-BIREME, COCHRANE, PubMed, LILACS, SciELO y EBSCO. La unidad de análisis fue la recopilación de diversos artículos vinculados con la temática de estudio publicados entre los años 2001 y 2014.

EICOSANOIDES Y RESPUESTA INMUNE

El mecanismo de acción de las series n-6 y n-3 sobre la inmunidad se relaciona con la capacidad de estos y sus derivados de modular la expresión de genes, citoquinas y otros compuestos implicados en la inflamación como factores de crecimiento y transcripción (8)(9).

El enriquecimiento de las membranas celulares con EPA y DHA disminuye la producción de PG2 de manera dosis dependiente. Los derivados de la serie n-3 son con frecuencia menos activos biológicamente que los derivados del AA (10).

En lo que respecta a la resolución de la inflamación tienen especial importancia los siguientes eicosanoides: lipoxinas (derivada de AA) y resolvinas, protectinas y maresinas (derivadas de EPA y DHA). Las lipoxinas intervienen en la resolución de la inflamación porque impiden el flujo de neutrófilos al foco inflamatorio (5).

Las resolvinas son inmunomoduladores potentes y enterospecíficos que involucran la regulación de la quimiotaxis de los neutrófilos, mejoran la fagocitosis y disminuyen la producción de citoquinas inflamatorias (11).

Los antes mencionados y en especial las protectinas, además cumplen un papel protector sobre el sistema nervioso, la retina, el hígado y los pulmones. Siendo uno de los mecanismos posibles la supervivencia celular, ya que inhiben la apoptosis (5).

Los mismos modulan la intensidad y duración de la respuesta inmune, siendo los más vinculados a estos procesos los LT y las PG. De la serie n-6 las PG2 además de los diversos efectos inflamatorios, parecen ser inmunosupresoras ya que reducen la proliferación de linfocitos y la actividad de las células natural killer. También inhiben la producción de factor de necrosis tumoral (TNF- α), de las interleuquinas 1, 2 y 6 (IL-1, IL-2, IL-6) que actúan sobre las células T. El LT4 es fuertemente quimiotáctico y está implicado en la generación, desarrollo y resolución de las respuestas del sistema inmune (5)(7).

Por otra parte, los derivados de la serie n-3 son antiinflamatorios y por lo tanto potencialmente protecto-

res en las enfermedades en que la respuesta inmune comprende la etiología del cuadro como son el asma, la artritis reumatoidea, enfermedades inflamatorias intestinales, aterosclerosis, entre otras (5)(7)(12).

En los cuadros asmáticos los LT y las PG están involucrados en la cascada inflamatoria que ocurre en las vías respiratorias e incluye a los mastocitos, macrófagos, eosinófilos y linfocitos. El LT4 ocasiona broncoespasmos, edemas en las vías respiratorias, secreción de moco y migración de las células inflamatorias (7)(12). En esta enfermedad, predominan los neutrófilos por acción de quimiotaxis del LT4 y además IL-8. Esta interleuquina está estimulada a su vez por el LT4 y los mastocitos (13). Se realizó un estudio caso/control con 16 jóvenes portadores de asma severa que presentaban broncoconstricción por el ejercicio, a los que les fue suministrado aceite de pescado (3,2g EPA + 2g DHA) y tocoferol, mostrando disminución de las concentraciones de LT4, LT4, PG2, citoquinas IL-1 y TNF- α (7). La disminución de LT4 y el aumento de LT5 por los leucocitos polimorfonucleares activados, contribuyen con los efectos observados (7).

En CARDIA (Coronary Artery risk development in young adults) un estudio de cohortes prospectivo realizado con adultos jóvenes (18 a 30 años) en Estados Unidos mostró que la ingesta de ácidos grasos omega 3 es inversamente proporcional con la incidencia de asma (14).

Sin embargo, otros estudios randomizados, controlados con placebos y doble ciego en adultos no han mostrado una fuerte asociación, mientras que en niños se ha visto que mejoran la función pulmonar y disminuyen la severidad de la enfermedad (7)(15).

En las personas con artritis reumatoidea, enfermedad inflamatoria autoinmune la producción de citoquinas inflamatorias derivadas del AA, tienen un rol fundamental en el inicio y desarrollo de la misma. Actúan estimulando la liberación de TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10, metaloproteínas y fibroblastos sinoviales (7).

Algunos estudios muestran que el aporte de EPA y DHA compite con el contenido de AA reduciendo esta respuesta inflamatoria y dando lugar a la producción de resolvinas (16)(17). La serie n-3 también puede afectar la función de las células dendríticas y las T, así como la producción de citoquinas inflamatorias, no siendo consistentes los resultados (16).

Múltiples estudios con modelos animales, controlados con placebo, randomizados y doble ciego han demostrado efectos positivos de la acción de la serie n-3 en esta enfermedad, retrasando el desarrollo de la misma y reduciendo su severidad (16)(17).

Los efectos son constantes pero modestos en lo que respecta a la disminución de la inflamación, dolor, rigi-

dez matinal y la actividad de la enfermedad. Del mismo modo, se ve reducido el uso de anti inflamatorios no esteroideos (4)(16)(17)(18).

En relación a la arterioesclerosis, la formación de la placa de ateroma que se produce en la enfermedad cardiovascular se considera una patología fibro-proliferativa inflamatoria crónica. Se inicia con el acumulo subendotelial y oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL), infiltración de monocitos y su conversión en macrófagos. Esto origina la aparición de células espumosas, acumulo de mastocitos y otras células inflamatorias dando lugar a hiperplasia del músculo liso de la pared del vaso. Se produce por tanto la secreción de elementos fibrosos que contribuyen al crecimiento de las placas fibrosas oclusivas (7)(19)(20)(21).

Prácticamente todas las prostaglandinas tienen efecto vasodilatador, especialmente las de la serie E. Disminuyen la presión arterial y aumentan el gasto cardíaco (5).

En cambio, la PG2, el LT4 y el TX2 tienen efecto contrario, son potentes vasoconstrictores y proinflamatorios. Los diabéticos pueden estimular la formación de prostaglandinas vasoconstrictoras derivadas del endotelio si la glucemia se encuentra elevada (7).

En pacientes portadores de enfermedad inflamatoria intestinal crónica, las prostaglandinas de la serie E aumentan la secreción de moco en estómago e intestino delgado y estimulan el peristaltismo intestinal (5).

Se han demostrado efectos beneficiosos de los ácidos grasos n-3 en la enfermedad inflamatoria intestinal, Crohn y en la Colitis Ulcerosa Crónica (CUC) (7).

Se ha demostrado en estudios experimentales en animales con patología inflamatoria intestinal que los AGPI n-3 pueden reducir sustancialmente la producción de PG, TNF- α , LT4 y TX (22).

Existen trabajos randomizados, doble ciego, con grupos control, en donde se utilizó un promedio de 3,3g /

día de n-3 por períodos que fueron de 12 -14 semanas. Algunos de ellos, reportaron efectos beneficiosos sobre todo para la enfermedad de Crohn, mostrando mejoría en la histología y remisión de la enfermedad. Se pudo concluir que en adecuadas dosis el uso de éstos ácidos grasos ofrecería posibles beneficios para la enfermedad de Crohn, mientras que para la CUC la evidencia es insuficiente (4).

CONCLUSIONES

La composición en AGPI de la dieta juega un rol fundamental en la modulación de las funciones inmunes y procesos inflamatorios.

La proporción en que los eicosanoides se producen depende de la cantidad de sustrato disponible, lo que influye en que la respuesta sea proinflamatoria o antiinflamatoria.

Los efectos beneficiosos de los eicosanoides derivados de los n-3 han sido demostrados en distintos estudios con relación a las enfermedades investigadas.

- Mejoran la función pulmonar y disminuyen la severidad del asma infantil, en adultos la evidencia no es convincente.
- Se ha encontrado retraso en el desarrollo de la artritis reumatoidea en los trabajos revisados, aunque sería necesaria mayor evidencia.
- Con respecto a la arterioesclerosis se destaca el efecto vasodilatador de estos compuestos.
- Para la enfermedad de Crohn en adecuadas dosis redundarían en beneficios, por otra parte, las evidencias no son suficientes para mostrar efectos en CUC.

Es necesario aún más trabajos de investigación para poder establecer las recomendaciones de dosis de consumo de n-3 en portadores de patologías específicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ettinger S., Macronutrientes Carbohidratos, proteínas, lípidos. En: Mahan Lk.; Nutrición y Dietoterapia Krause. 10 ed. México: Mc Graw Hill; 2001. C. 3. p 46-57.
2. Valenzuela B Alfonso, Sanhueza C Julio. ACEITES DE ORIGEN MARINO; SU IMPORTANCIA EN LA NUTRICIÓN Y EN LA CIENCIA DE ALIMENTOS. Rev. chil. nutr. [Revista en la Internet]. 2009 Sep [acceso: 21 Julio de 2013]; 36 (3): 246-257. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182009000300007&lng=es.
3. Moreiras O., Carbajal A., Cabrera L., Cuadrado C. - Tabla de composición de alimentos. 12 ed. Madrid: Pirámide; 2008.
4. FAO/WHO. Fat and fatty acids in human nutrition - Report of an expert consultation. FAO FOOD AND NUTRITION PAPER 91 - Fat and fatty acid intake and inflammatory and immune response - 2008 Nov. (acceso: 3 de julio de 2012) C. 8; 91-96. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/agn/nutrition/docs/fats%20and%20fatty%20acids%20summary.pdf>
5. Gil A., Sánchez F.; Comunicación intercelular: hormonas, eicosanoides y citoquinas. En: Gil Hernández A. Tratado de nutrición. 2 ed. Madrid: Acción Médica; 2005. Vol. I. C. 3. p. 51-60.
6. Mataix Verdú J., Sánchez de Medina, F. Lípidos. En: Mataix Verdú, J. Nutrición y alimentación humana: nutrientes y alimentos. Barcelona: Océano; 2002. pp. 61-94
7. Gomes, T.; Olivera S. O papel dos ácidos graxos essenciais no perfil de eicosanoides e sua repercussão na desposta imune. Nutrire: Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.: J. Brazilian Soc. Food Nutr 2010 abril, Sao Paulo, 35 (1): p167-186.
8. Alvarez J., Alvarez De Frutos V., Botella M., Nutrición en las enfermedades del sistema inmunológico. En: Gil Hernández A. Tratado de nutrición. 2 ed. Madrid: Acción Médica; 2005. Vol. IV. C. 41. p. 1203-04.
9. Calder P. n-3 ácidos grasos poliinsaturados, inflamación y enfermedades inflamatorias. Am J Clin Nutr [Revista de internet] 2006; [acceso: 21 Julio de 2013] 83:1505-1519 Disponible en: <http://ajcn.nutrition.org/content/83/6/S1505.long>
10. Parveen Y; Efecto inmunoregulador de los ácidos grasos poliinsaturados n-3: mecanismos responsables. En: Ascención M.; Inmunonutrición e salud y enfermedad. 1er ed. Madrid: Panamericana; 2011, Cap. 27 p. 315- 321.
11. Zhang MJ, Resolvins: Anti-Inflammatory and Pro-resolving Mediators Derived from Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids. Annual Review of Nutrition [Revista de internet] 2012; [acceso: 21 Julio de 2013]. 32: 203-227 Disponible en: <http://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev-nutr-071811-150726>
12. Riediger Nd., Othman RA., Moghadasian MH.. A systemic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease. J Am Diet Assoc. 2009 ;109 (4): 668-79.
13. Rubin P, Mollison K., Pharmacotherapy of diseases mediated by 5-lipoxygenase pathway eicosanoids. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2007, 83(3): 188-197. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17481554>
14. Li J., Xun P, Zamora D., Sood A., Liuk Daviglius M., Iribarren C., Jacobs D., et ál. Intakes of long-chain omega-3 (n-3) PUFAs and fish in relation to incidence of asthma among American young adults: the CARDIA study. Am J Clin Nutr. [revista de internet] 2013 [acceso 21 de julio de 2013]. Disponible en: <http://ajcn.nutrition.org/content/97/1/173.long>
15. Nagel T , Linseisen J . La ingesta de ácidos grasos, antioxidantes y grupos de alimentos seleccionados y el asma en los adultos. Eur J Clin Nutr [revista de internet] 2005; [acceso 21 de julio de 2013]; 59 (1):8 - 15. Disponible en: <http://www.nature.com/ejcn/journal/v59/n1/full/1602025a.html>
16. Miles E., Calder P, Influencia de los recursos marinos poliinsaturados n-3 sobre la función inmunológica y una revisión sistemática de los resultados clínicos de sus efectos en la artritis reumatoidea. Br J Nutr [revista de internet] Junio 2012. [Acceso 6 de julio 2013]; 107 (2): 171-84. Disponible en: <http://journals.cambridge.org/action/displayFulltext?type=1&fid=8586730&jid=BJN&volumeld=107&issueld=S2&aid=8586728&bodyId=&membershipNumber=&societyETOCSession=>
17. Dawczynki C., Hackermeier U., Viehweger M., Stange R., Springer M., Jahreis G. Incorporation of n-3 PUFA and γ -linolenic acid in blood lipids and red blood cell lipids together with their influence on disease activity in patients with chronic inflammatory arthritis - a randomized controlled human intervention trial. Lipids in Health and Disease. [revista de internet] Agosto 2011. [Acceso 2 de abril 2014]. 10:130 Disponible en: La incorporación de PUFA n-3 y ácido γ -linolénico en los lípidos de la sangre y los lípidos de células rojas de la sangre así como su influencia en la actividad de la enfermedad en pacientes con artritis inflamatoria crónica - un ensayo controlado aleatorio de intervención humana. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3162909/pdf/1476-511X-10-130.pdf>
18. ParkY., Lee P., Shim SCh., Lee J., Choe JY., Anh H., Bum Ch., et ál. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in patients with rheumatoid arthritis: a 16-week randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-design multicenter study in Korea. Journal of Nutritional Biochemistry. [revista de internet] Julio 2013 [acceso 2 de abril 2014] 24 (7): 1367-72. Disponible en: <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/es/mdl-23333088?lang=es>
19. Lee JH., O' Keefe JH., Lavie CJ., Harris WS. Omega-3 fatty acids: cardiovascular benefecits, sources and sustainability. Nat Rev Cardiol. [revista de internet]2009; [acceso 21 de julio de 2013] 6(12):753-8. Disponible en: <http://www.nature.com/nrcardio/journal/v6/n12/full/nrcardio.2009.188.html>
20. Fillion et ál. Omega 3 fatty acids in high risk cardiovascular patient a meta analysis of randomized controlled trials. BMC Cardiovascular Disorders. [revista de internet] 2010; [acceso 21 de julio de 2013] 10 :24. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2261/10/24>
21. García A., Meneses E., Pérez P, Pérez F. Omega 3 y enfermedad cardiovascular: más allá de los factores de riesgo. Nutr. Clin.Diet. Hosp.[revista de internet] 2009; [acceso 21 de julio de 2013] 29 (1):4-16. Disponible en: http://www.nutricion.org/publicaciones/revistas/Revisi%C3%B3n_Omega-3_2009_1.pdf
22. Kono H, Fujii H, Ogiku M, Tsuchiya M, Ishii K, Hara M. Enteral diets enriched with medium-chain triglycerides and n-3 fatty acids prevent chemically induced experimental colitis in rats. Transl Res. [revista de internet] 2010;156:282-91. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20970751>