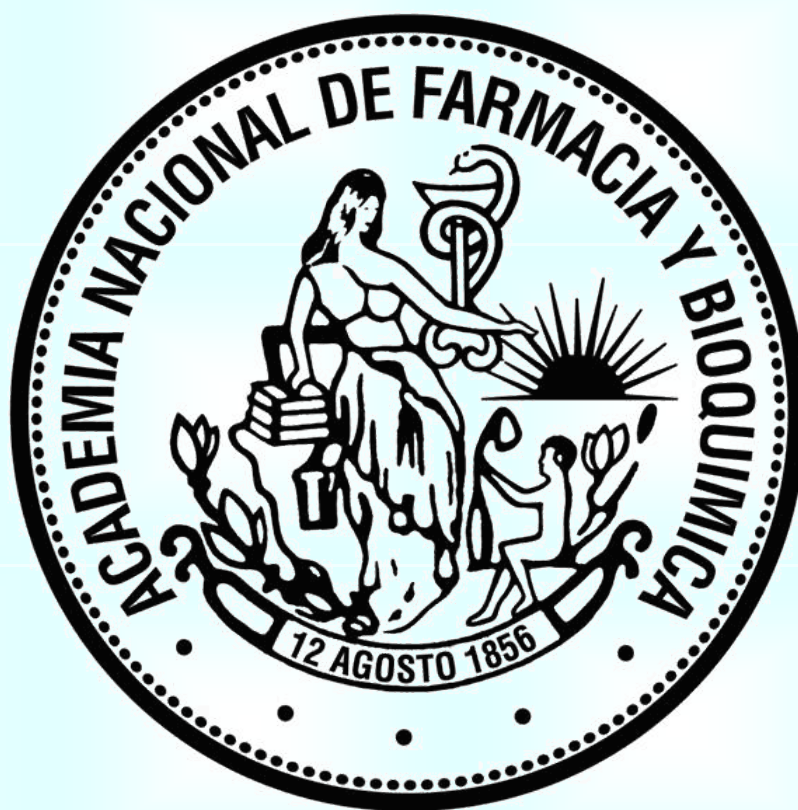


ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

REVISTA FARMACEUTICA

REVIEWS



Rev. Farm. 155 – 2013 ISSN

BUENOS AIRES - ARGENTINA

Volumen 155
Nº 1-2
2013



Fundada 1858

COMITÉ DE PUBLICACIÓN
EDITORIAL BOARD

Coordinador:

Acad. Modesto C. Rubio

Miembros:

Acad. Manuel R. Limeres

Acad. Mario A. Los

Acad. Marcelo C. Nacucchio

Acad. Maria Luz Pita Martín

Acad. Marta Salseduc

Acad. Marcelo Squassini

Editada por la
Academia Nacional
de Farmacia y Bioquímica
Junín 956 - P.P.

Tel./fax: (011) 4964-8213
Buenos Aires

E-mail: acad@ffyb.uba.ar

Dirección Postal:

Junín 956 P.P.

1113 Buenos Aires - Argentina

<http://www.anfyb.com.ar>

La presente edición de
se terminó de imprimir en
Noviembre de 2013

REVISTA
FARMACÉUTICA
REVIEWS

Editada por la
Academia Nacional de Farmacia y
Bioquímica
Personería Jurídica Resol. Nº 1762-30/8/1968

CONSEJO DIRECTIVO 2012-2013

Presidente

Acad. Carlos M. Baratti

Vice-Presidente

Acad. Miguel Ángel Caso

Secretario General

Acad. Gabriel Mato

Prosecretario

Acad. Marta M. Salseduc

Tesorero

Acad. Manuel R. Limeres

Protesorero

Acad. Miguel D' Aquino

Vocales Titulares

Acad. Carlos A. Gotelli
Acad. Juan Pablo F.C. Rossi

Vocales Suplentes

Acad. Otmaro E. Roses
Acad. Modesto C. Rubio

Revisores de Cuentas

Acad. Alfredo A. Hager
Acad. Osvaldo Cascone
Acad. Francisco J. Stefano

ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ACADÉMICOS TITULARES

Acad. María Cristina Añón	Acad. Luis Eduardo Díaz	Acad. Marco Pizzolato
Acad. Carlos M. Baratti	Acad. Carlos H. Gaozza	Acad. Edgardo Poskus
Acad. Mirta J. Biscoglio	Acad. Hector I. Giuliani	Acad. Ruben V. D. Rondina †
Acad. Alberto A. Boveris	Acad. Gabriel O. Gutkind	Acad. Otmaro E. Roses
Acad. Carlos Bregni	Acad. Carlos A. Gotelli	Acad. Juan Pablo F.C. Rossi
Acad. Rodolfo Brenner	Acad. Alfredo A. Hager	Acad. Modesto C. Rubio
Acad. Nestor O. Caffini	Acad. Silvia Hajos	Acad. José Alberto Santomé
Acad. Clyde N. Carducci	Acad. Mario A. Los	Acad. Marta M. Salseduc
Acad. Ricardo A. Caro	Acad. Manuel Limeres	Acad. Alfredo Salibian
Acad. Osvaldo Cascone	Acad. Horacio José Gabriel Mato	Acad. Francisco J.E. Stefano
Acad. Miguel A. Caso	Acad. Marcelo C. Nacucchio	Acad. María Guillermina Volonté
Acad. Miguel D' Aquino	Acad. María Luz Pita Martín de Portela	Acad. Regina L. W. de Wikinski
Acad. Tomás de Paoli		

ACADÉMICOS EMÉRITOS

Acad. Sem M. Albonico	Acad. Hector M. Chechile	Acad. Ronaldo Meda
Acad. Arnaldo L. Bandoni	Acad. Mateo Chekherdemian	Acad. Horacio B. Rodríguez
Acad. Jorge D. Coussio	Acad. Enrique Iovine	Acad. Antonio F. Somaini

ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES

ARGENTINA

Acad. Anibal G. Amat †
Acad. Marcelo O. Cabada
Acad. Jorge Errecalde
Acad. Oscar H. Fay
Acad. Raul C. Fazio
Acad. Aida Pesce de Ruiz
Holgado
Acad. Guillermo R. Lossa
Acad. Ruben H. Manzo
Acad. Modesto P. Montecchia
Acad. Aldo D. Mottino

Acad. Elsa M. Nadalin
Acad. Jorge O. Nicolini
Acad. Otto A. Orsinger
Acad. Ana Maria Pechen
D'Angelo
Acad. Gabriela Del Valle
Perdigón
Acad. Hugo G. Pérez
Acad. Clelia M. Riera
Acad. Daniel O. Sordelli
Acad. Marcelo D. Squassini
Acad. Alberto Diaz

ALEMANIA

Acad. Pablo Steinberg

BRASIL

Acad. Aluísio Pimenta
Acad. Caio Romero Cavalcanti

CHILE

Acad. Aquiles Arancibia Orrego
Acad. Marco A. Montes Guyot
Acad. Rosa I. Morán Gana
Acad. Wanda Quilhot Palma

COLOMBIA

Acad. Fleming Martínez
Rodríguez

CUBA

Acad. Ricardo Galvis
Acad. Héctor Zayas Bazan y
Perdomo

ECUADOR

Acad. Julio F. Araoz
Acad. Eduardo Goetchel

ESPAÑA

Acad. María del Carmen Francés
Causapé
Acad. Tomás Adzet Porredón
Acad. Francisco Zaragoza García
Acad. Eduardo Mariño
Hernández
Acad. Miguel Ylla Catalá Genis
Acad. Antonio Monge Vega

ESTADOS UNIDOS

Acad. Jorge R. Barrio
Acad. Jorge D. Brioini
Acad. Marcel E. Nimni

FRANCIA

Acad. Jean Marc Aïache
Acad. Paul Fleury
Acad. Carlos Soto

ITALIA

Acad. Stefano Govoni

MEXICO

Acad. Pedro Joseph Nathan

PANAMA

Acad. Ceferino Sánchez

PARAGUAY

Acad. Luis H. Berganza

PERU

Acad. Bertha Pareja Pareja
Acad. Fernando Quevedo Ganoza
Acad. José Amiel Pérez

VENEZUELA

Acad. José Luis Andrade

URUGUAY

Acad. Jorge Ares Pons
Acad. Cayetano Cano Marotta
Acad. Cosme de los Santos
Carvallido
Acad. Uberfil Delbene Garate
Acad. Pietro Fagiolino
Acad. Raquel Lombardo de
Bertolaza
Acad. Justo Emilio Menes
Acad. Patrick Moyna
Acad. Anibal Alberto Olmos
Ferreira
Acad. Oscar Polla Bermudez
Acad. Joaquin E. Royer Meicoso

ACADÉMICOS HONORARIOS

ARGENTINA

Acad. Juan Carlos Bagó

BRASIL

Acad. Evaldo de Oliveira

ESPAÑA

Acad. Benito del Castillo García
Acad. María Teresa Miras Portugal
Acad. Federico Mayor Zaragoza

ITALIA

Acad. Rodolfo Paoletti

ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



REVISTA FARMACEUTICA REVIEWS

VOLUMEN 155 N° 1-2 – Año 2013

SUMARIO

<u>EVALUACIÓN DE LA ABSORTIVIDAD: PROPIEDADES Y APLICACIONES A LA QUÍMICA ANALÍTICA FARMACÉUTICA</u>	2
Abel Helvio Saavedra, Graciela Edith Sutton	
<u>BIODISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES MINERALES</u>	18
Mirta Eva Valencia, Patricia Ana Ronayne de Ferrer y María Luz Pita Martín de Portela	
<u>CARBOHIDRATOS NO DIGERIBLES COMO INGREDIENTES FUNCIONALES: RELACIÓN CON LA DISPONIBILIDAD DE MINERALES Y CON LA PREVENCIÓN DE LA OSTEOPOROSIS ..</u>	36
Adriana Weisstaub , Angela Zuleta.	
<u>NUTRICIÓN PARENTERAL: IMPORTANCIA DE LA CONTAMINACIÓN CON MICROMINERALES ESENCIALES</u>	45
Ana María Menéndez, María Luz Pita Martín de Portela	
<u>INTERCAMBIO DE MECANISMOS DE RESISTENCIA ENTRE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS..</u>	57
Di Conza José, Power Pablo, Gutkind Gabriel.	
<u>MISTERIOS Y REALIDADES DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER</u>	70
Gabriela Beatriz Acosta	
<u>DEFICIENCIA DE COENZIMA Q10: ¿UNA ENFERMEDAD HUÉRFANA EN ARGENTINA?</u>	81
Silvia Lucangioli y Valeria Tripodi	
<u>FARMACOVIGILANCIA EN LA ACTUALIDAD EN ARGENTINA</u>	89
Dra. Ines Bignone.	
<u>PROF. DR. RUBÉN VICTOR DANIEL RONDINA</u>	94
Dr. Arnoldo Bandoni	
<u>SEMBLANZA DE ANÍBAL G. AMAT</u>	96
Acad. Néstor Caffini	

EVALUACIÓN DE LA ABSORTIVIDAD: PROPIEDADES Y APLICACIONES A LA QUÍMICA ANALÍTICA FARMACÉUTICA

Abel Helvio Saavedra, Graciela Edith Sutton

Instituto de Química Básica y Aplicada, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad de Morón, Cabildo 134, Morón, Provincia de Buenos Aires, Argentina

E-mail: farmacia@unimoron.edu.ar; ahsaavedra@unimoron.edu.ar

CONTENIDOS

RESUMEN	2
SUMMARY	3
INTRODUCCIÓN	3
MATERIALES Y MÉTODOS	4
INSTRUMENTACIÓN	4
DESARROLLO	4
PARTE A: SIGNIFICADO DE LA ABSORTIVIDAD	4
1) DESDE UN PUNTO DE VISTA DIMENSIONAL:	4
2) DESDE UNA PERSPECTIVA FÍSICA:	5
PARTE B: RELACIONES PARA LA INVESTIGACIÓN	6
PARTE C: APLICACIÓN A SISTEMAS MULTICOMPONENTES	6
ANÁLISIS DE MODELOS	8
a) COMPUESTOS CON CROMÓFOROS IGUALES (igual λ_{max})	8
b) COMPUESTOS CON CROMÓFOROS SEMEJANTES (λ_{MAX} cercanos)	10
c) COMPUESTOS CON CROMÓFOROS DIFERENTES (con igual o similar λ_{MAX})	12
d) COMPUESTOS CON CROMÓFOROS DIFERENTES (con distinto λ_{MAX})	13
CONCLUSIONES	16
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17

RESUMEN

Los análisis químicos en general requieren cada vez más frecuentemente de métodos espectroscópicos como los detectores de HPLC y distintas formas de espectroscopia y por ello están subordinados al valor de su correspondiente absorptividad. La importancia que mantiene este concepto, el enfoque desde otras disciplinas y su aplicación al análisis de fármacos, es justamente el objetivo fundamental de la presente Investigación, la cual plantea el tema desde un plano teórico pero también experimental. De tal modo y a través de su interpretación, el trabajo permite una mejor adecuación funcional a los distintos contextos analíticos y para distintos campos, según la variedad de situaciones que hoy se presentan en un laboratorio químico farmacéutico.

En su desarrollo, primeramente se evalúan sus características particulares, su interpretación y alcance tanto analítico como quimicofísico; luego se lo relaciona con otras disciplinas, se establece su importancia en la investigación de nuevos productos y finalmente, se lo aplica a la separación de diversas mezclas.

Durante el curso de toda la Investigación, las relaciones utilizadas y las conclusiones halladas en forma ordenada y secuencial, son confirmadas por los resultados obtenidos en el laboratorio experimental, como única fuente primaria de datos.

Palabras clave: Absortividad; fármacos y absorptividad; absorptividad en Química Farmacéutica; propiedades de la absorptividad.

EVALUATION OF ABSORPTIVITY: PROPERTIES AND APPLICATIONS TO PHARMACEUTICAL ANALYTICAL CHEMISTRY

SUMMARY

Chemical analyses in general need increasingly of spectroscopic methods as HPLC and others, and therefore they are conditioned by the respective absorptivity. The importance that supports this concept, the approach from other disciplines and his application to the analysis of medicaments are the fundamental aims of the present Investigation that raises the topic from a theoretical point of view but also experimentally.

In this way and by his interpretation the work allows a better functional adequacy to the different analytical contexts and different matrix, according to the variety of components that show pharmaceutical or chemical laboratories. His particular characteristics, interpretation and analytical as well physicochemical scope are first evaluated; then it is related to other topics, his importance is established in the investigation of new products and finally it is applied to the separation of diverse mixtures. During the course of the whole Investigation, the used relations and conclusions, in a sequential form, are confirmed by the results obtained in the experimental laboratory, as the only primary source of information.

Key words: Absorptivity; absorptivity and drugs; absorptivity in Pharmaceutical Chemistry; absorptivity properties.

INTRODUCCIÓN

El concepto de absorptividad con frecuencia se plantea desde una óptica restringida, donde la mayoría de las veces su función se presenta como una simple constante de proporcionalidad, sin describir su verdadero valor ni mencionar el por qué de su existencia bajo distintas formas de expresión, independientemente de las unidades que citan la concentración del analito.

Éstas son algunas cuestiones que orientan la búsqueda hacia antecedentes puntuales, donde su interpretación real descubra algo más que una igualdad dimensional según la conocida ley de Beer, ya que *dicha ley es una aplicación generalizada del concepto, pero no define el concepto en sí mismo*, tal como se demuestra más adelante.

Como ejemplo de ello, en la Universidad de Florida, USA, Y. Sham y J. Joens (1) primero y años después, M. Malik y J. Joens (2) analizaron la dependencia de la absorptividad molar con la temperatura en la región del UV cercano para varios aldehídos en solución acuosa. También, uno de los autores del presente trabajo (3) utilizó la técnica de barrido espectral seguido de una separación por HPLC en fase reversa, para analizar antioxidantes en fármacos y alimentos; dicha metodología permitió además, separar compuestos con valores similares de absorptividad molar en matrices farmacéuticas y cosméticas (4).

Una determinación de la absorptividad molar sobre nanopartículas ligadas a películas delgadas, fue efectuada por M. M. Maye, L. Han y otros colaboradores (5), quienes utilizaron resonancia en plasma superficial para nanopartículas de Oro y Plata. También en China, C. Zhu y otros investigadores (6) desarrollaron un método para detectar fluoruros en base a la desprotección de grupos hidroxilos en colorantes de cianinas; así hallaron absorptividades del orden de $200000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 600 nm.

Los métodos de espectroscopia citados se extienden a la región Infrarroja, donde A. González y otros colaboradores españoles (7), los aplicaron para determinar la absorptividad y calcular constantes de equilibrio

de auto e interasociación en ácido carboxílico y sus mezclas con derivados de piridina. Además, X. Huang y J. Zhang (8) en Miami, USA, desarrollaron un método basado en surfactantes sensibilizados para hallar trazas de ortofosfato con molibdato y verde de malaquita, en presencia de tensioactivos aniónicos a pH 1.00.

La relación entre la absorptividad y la fuerza iónica, fue también uno de los temas investigados por T. Sladewski, A. Shafer y C. Hoag (9) en Estados Unidos, mediante el espectro producido por rojo congo en solución acuosa, y en la universidad de Benha en Egipto, I. S. Ahmed y A. S. Amin (10) analizaron la absorptividad por microdeterminación espectrofotométrica de fenilefrina clorhidrato, como sustancia pura y en formulaciones farmacéuticas usando hematoxilina. En la universidad de Mysore, India, Mansour S. y otros colaboradores (11), también explicaron un nuevo método espectral para nitritos por su efecto decolorante sobre complejos con vanadato.

MATERIALES Y MÉTODOS

INSTRUMENTACIÓN

Se utilizó todo el material de vidrio correspondientemente calibrado y validado, según la metodología empleada (matraces, pipetas aforadas, etc.), drogas de calidad y pureza analítica, marca Merck Química Argentina, una balanza analítica marca Precisa modelo 205 A (0.1 mg), un peachímetro Inolab modelo WTW pH 730 con electrodo combinado Sentix 4 I y dos equipos Hach, modelos DR / 4000 U y DR / 5000 U Spectrophotometers.

Las drogas fueron adquiridas en laboratorios nacionales e internacionales de reconocida trayectoria en el mercado, y los resultados obtenidos se trabajaron en programas Word y Excel con un procesador Intel Pentium IV, bajo un entorno operativo Windows XP®, en su mayoría.

DESARROLLO

En un trabajo previo (12), el autor analiza las propiedades de la absorptividad en la investigación de nuevas sustancias farmacéuticas y plantea algunas cuestiones tales como:

¿Por qué existen dos clases de absorptividades según la expresión de la concentración, y no una o tres, por ejemplo?

Para responder a dicha pregunta cabe analizar el concepto desde distintos aspectos, a saber:

PARTE A: SIGNIFICADO DE LA ABSORTIVIDAD

1. Desde un punto de vista dimensional:

En base a las dos absorptividades, su relación dimensional indica que el valor de ϵ es a veces la masa molar de la sustancia absorbente; además, despejándola de la ley correspondiente y reemplazando a L por 10^3 cm^3 se obtiene: $a = 10^3 \text{ cm}^2 / \text{g}$ y $\epsilon = 10^3 \text{ cm}^2 / \text{mol}$, o su expresión equivalente

$$a = [\text{cm}^2 / \text{mg}] \quad \text{y} \quad \epsilon = [\text{cm}^2 / \text{mmol}] \quad [1]$$

que permite analizar su significado desde un aspecto más propio, ya que representa la *sección transversal de absorción por unidad de masa o de concentración*, según se trate de a o ϵ respectivamente.

Esta característica justifica que la magnitud de la absorptividad, será siempre función de la sección de absorción mencionada, llamada también sección transversal de captura fotónica, y puede considerarse como un área o superficie hipotética de absorción, dada en cm. de lado, que es atravesada por una determinada clase de radiación.

2. Desde una perspectiva física:

Para una radiación suficientemente monocromática, la magnitud de ε o de a , está asociada con la *intensidad de una absorción particular*, que permite la energía de los fotones de la radiación; esto muestra la *probabilidad* de lograr una transición electrónica en el analito, ya que no todas las transiciones son igualmente probables, según los diferentes picos de absorción hallados para una misma especie, en distintas regiones del espectro.

Así, las sustancias que tienen una alta probabilidad (valores cercanos a 1) tendrán elevadas intensidades de ε (por Ej. 10^4 - 10^5 para moléculas en la zona UV-visible), lo que revela la presencia de compuestos fuertemente coloreados. En cambio para las sustancias con transiciones poco probables (valores próximos a 0) los ε serán de baja intensidad (10^0 - 10^3 para el caso anterior), que es común en compuestos insuficientemente coloreados o transparentes.

En general, el estudio de estas cantidades llamadas áreas o secciones transversales, permiten responder a preguntas tales como qué tan probable son estos procesos de absorción, para una especie determinada? o bien, para un analito dado, en qué longitud de onda aparecerá su pico de mayor absorción (λ_{MAX})? Justamente, la probabilidad de que un fotón de energía definida, sea absorbido en dicho proceso al pasar por un átomo de la placa, queda especificada por el valor de la sección transversal correspondiente.

En un análisis más estricto pero aún semiclásico, que considera a la radiación formada por un vector eléctrico normal a uno magnético, de modo que ambos se multiplican vectorialmente para generar el vector direccional de Poynting, se puede aceptar con cierta prudencia, algunas derivaciones ajenas a su naturaleza fotónica. Por Ej., para aplicar la ley de Beer el medio debe ser homogéneo e isótropo, o sea que la potencia radiante que lo atraviesa, experimenta una *progresiva y constante* disminución de su valor, en el sentido de la radiación incidente y a lo largo de su trayectoria a través de dicho medio absorbente.

Esto sugiere que cada plano virtual que es atravesado por la radiación mencionada, contiene el mismo número de partículas por unidad de superficie; así, cada grupo de partículas activas dispuestas en tales planos moleculares o iónicos, aportará una cuota igual de reducción a la potencia de la radiación incidente.

Energéticamente y mientras no existan interacciones de otro tipo (ópticas, químicas, etc.), cada plano virtual podrá ser identificado por su contenido puntual de energía radiante. Dicho de otra forma, estos planos o áreas hipotéticas de absorción, definen las propiedades que caracterizan a una *superficie equipotencial*.

Si se considera en ella a las líneas de campo como líneas de flujo, para el caso particular de la radiación (aunque en rigor no es igual, según que el tiempo sea una variable), cabe expresar que el número de dichas líneas por unidad de área de sección transversal, es directamente proporcional a la magnitud de la radiación incidente.

Esta forma de interpretación vectorial, aún con las limitaciones de un tratamiento semiclásico, complementa el significado físico de la absorptividad visto antes desde un aspecto dimensional, y permite esbozar teóricamente algunas relaciones de valor analítico (densidad de partículas por grupos activos, divergencia de flujo, identificación de especies absorbentes, entre otros)

PARTE B: RELACIONES PARA LA INVESTIGACIÓN

La utilidad de dichas áreas ya sean específicas o molares, no se limita sólo a los fotones en los procesos de absorción mencionados (también se vincula a la refracción molar, índice de refracción, etc.) y se evidencian por Ej., para el cálculo de la conocida rotación óptica, en una muestra líquida cuya fórmula de aplicación es:

$$[\alpha]_{\lambda}^T = 100 \cdot r / l \cdot c$$

donde α es la rotación específica a la longitud de onda λ y temperatura T, r es la rotación observada en grados [°], l la longitud de radiación a través de la celda en decímetros, y c la concentración del analito en g / 100 mL.

Reemplazando los términos de la fórmula por las unidades correspondientes, y operando igual que para las absorptividades ya vistas en [1], se llega a la siguiente forma dimensional:

$$[\alpha]_{\lambda}^T = [\text{cm}^2 / \text{mg}] \cdot ^\circ \quad [2] \qquad [\alpha]_{\lambda}^T = [\text{cm}^2 / \text{mmol}] \cdot ^\circ \quad [3]$$

que tiene las unidades de un área transversal o sección eficaz de desviación polarimétrica (o sea, capaz de rotar el plano de vibración de la luz polarizada un ángulo °) por unidad de masa del analito; es por ello que la expresión [2] indica justamente un *área específica de desviación polarimétrica*

Si en cambio se divide la masa del soluto por su masa molar, entonces se obtiene [3], lo que determina un *área molar de desviación polarimétrica*, similar al caso anterior.

PARTE C: APLICACIÓN A SISTEMAS MULTICOMPONENTES

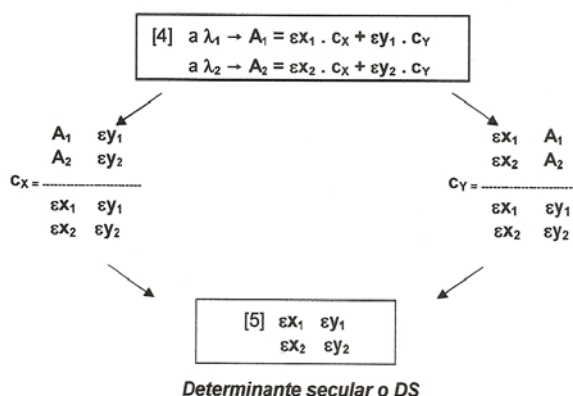
Para el estudio de la absorción en mezclas de sustancias, se verifica la relación aditiva de sus absorbancias individuales: $A_T = A_x + A_y + A_z + \dots = b \cdot [\epsilon_X \cdot C_x + \epsilon_Y \cdot C_y + \epsilon_Z \cdot C_z + \dots]$

Así como un cálculo algebraico necesita mínimamente, de tantas ecuaciones como incógnitas tenga el sistema, la absorción de una mezcla de analitos requiere también como mínimo, de tantas lecturas (λ_{MAX}) como componentes integren dicho sistema.

En el análisis de una mezcla binaria, para dos especies dadas x e y por Ej., se considera que x absorbe fuertemente a la longitud de onda λ_1 , mientras que la sustancia y lo hace a la longitud de onda λ_2 , de tal modo que se obtienen cuatro absorptividades:

para la sustancia x: ϵ_{X1} a λ_1 y ϵ_{X2} a λ_2
para la sustancia y: ϵ_{Y1} a λ_1 y ϵ_{Y2} a λ_2

y de ellas surgen las ecuaciones generales para estudiar cualquier sistema multicomponente:



El determinante secular o DS [5] al que se llega como resultado final del sistema [4], e integrando los estudios de Kolthoff I. M. y colaboradores (13), tiene un significado particular, ya que de él derivan tres consecuencias diferentes, según los valores hallados para las absorptividades, y establecen sus *casos límites* en función del espectro obtenido:

I) Cuando $\epsilon x_1 = 0$ y $\epsilon y_2 = 0$ o $\epsilon x_2 = 0$ y $\epsilon y_1 = 0 \Rightarrow$

$\Rightarrow$ **LOS PICOS NO SE TOCAN**

II) Cuando $\epsilon x_1 \cdot \epsilon y_2 = \epsilon x_2 \cdot \epsilon y_1$ o $\epsilon x_1 / \epsilon x_2 = \epsilon y_1 / \epsilon y_2 \Rightarrow$

$\Rightarrow$ **LOS PICOS NO SE SEPARAN**

III) Cuando $\epsilon x_1 = \epsilon y_1$ o $\epsilon x_2 = \epsilon y_2 \Rightarrow$

$\Rightarrow$ **ENTRE AMBOS PICOS EXISTE UN PUNTO EN COMÚN**

- El caso I representa una separación óptima, donde cada componente del sistema tiene su λ_{MAX} a longitudes de ondas tales que no existe solapamiento alguno en sus respectivos picos, ya que éstos dan señales independientes y con resolución total.
- El caso II establece una incapacidad para resolver el sistema por mediciones directas de absorción, pues sus picos salen superpuestos, con λ_{MAX} no separables y por ello este ejemplo es analíticamente inválido.
- El último caso III es el más frecuente en la mayoría de los análisis, donde se cruzan las curvas de absorciones individuales y determinan el **punto isobéptico** del espectro. A veces y según el gráfico, dicho punto es indicativo de una buena metodología analítica.

Ahora bien, dado que la posición de las bandas de absorción, está influenciada por los efectos estéricos, inductivos y mesómeros del propio analito, y recordando que la estructura química básica responsable de absorber radiación es un *grupo cromóforo* (sistema de enlaces múltiples usualmente orgánico, con definida clase, cantidad y disposición de electrones), es oportuno saber primero qué tipo de absorptividad conviene usar (a o ϵ) y luego, comparar los valores del DS obtenido con la estructura interna de algunas sustancias farmacéuticas, mediante sus respectivos espectros.

En este sentido, de acuerdo a su constitución química y masa molar, los absorbentes pueden clasificarse en dos grandes conjuntos dentro de la misma matriz:

1. *Sustancias similares, o sea que tienen similar estructura y el mismo grupo cromóforo.*
2. *Sustancias distintas, las que a su vez, pueden tener grupos cromóforos iguales o diferentes.*

Cuando las sustancias analizadas son similares, no existe un sistema multicomponente, por lo tanto carece de sentido aplicar el DS propio de las mezclas; la ley de Beer admite usar tanto a como ϵ , y la masa molar define la elección (por Ej., para valorar una materia prima donde la muestra y el estándar tienen la misma estructura).

En cambio si las sustancias son distintas, para el caso de una mezcla típica, el empleo de a o ϵ no es indiferente, puesto que es función del cromóforo presente en el componente a evaluar.

De tal división, que además *fundamenta la existencia de dos clases de absorptividades, molar y específica*, surgen todas las variantes o modelos que puede revelar un análisis de mezclas con sustancias distintas, según la naturaleza del citado grupo y su nivel de absorción:

- a) *COMPUESTOS CON CROMÓFOROS IGUALES (igual λ_{MAX})*
- b) *COMPUESTOS CON CROMÓFOROS SEMEJANTES (λ_{MAX} cercanos)*
- c) *COMPUESTOS CON CROMÓFOROS DIFERENTES (con igual o similar λ_{MAX})*
- d) *COMPUESTOS CON CROMÓFOROS DIFERENTES (con distinto λ_{MAX})*

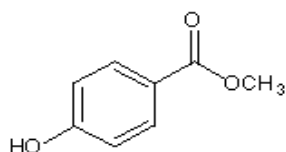
A los efectos de obtener una mayor información, los datos hallados sólo por vía experimental, son analizados frente a las dos absorptividades y a distintas concentraciones del analito, del cual se eligieron dos ejemplos para cada modelo, según el sistema binario estudiado.

Cabe aclarar que en algunos casos, aunque matemáticamente pueda ser indiferente usar uno u otro tipo de absorptividad, el rigor analítico demuestra que no es lo mismo.

ANÁLISIS DE MODELOS

a) COMPUESTOS CON CROMÓFOROS IGUALES (igual $\lambda_{\max}$)

Sustancia X: Metil parabeno (nipagín) con $\lambda_1 = 256$ nm.



Sustancia Y: Propil parabeno (nipasol) con $\lambda_2 = 256$ nm.

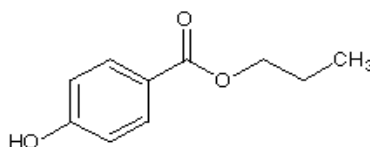


TABLA 1	$c_x = 3,8 \times 10^{-3}$ g/L o $2,5 \times 10^{-5}$ M y $c_y = 4,5 \times 10^{-3}$ g/L o $2,5 \times 10^{-5}$ M		
	Absorbancia	Absortividad específica	Absortividad molar
Sustancia x	λ_1 : 0,398	a_{x_1} : 104,74 ~ 105 L/g.cm	ϵ_{x_1} : 15920 M ⁻¹ .cm ⁻¹
	λ_2 : 0,398	a_{x_2} : 104,74 ~ 105 L/g.cm	ϵ_{x_2} : 15920 M ⁻¹ .cm ⁻¹
Sustancia y	λ_1 : 0,426	a_{y_1} : 94,66 ~ 95 L/g.cm	ϵ_{y_1} : 17040 M ⁻¹ .cm ⁻¹
	λ_2 : 0,426	a_{y_2} : 94,66 ~ 95 L/g.cm	ϵ_{y_2} : 17040 M ⁻¹ .cm ⁻¹

Para la misma concentración molar en las dos sustancias x e y según la tabla 1, el aumento de absorbancia producido de una a otra, es directamente proporcional al incremento de ϵ , pero no de a (dado por su distinta masa molar) en ambas especies. En consecuencia, frente a este caso de compuestos con cromóforos y $\lambda_{\max}$ iguales, la teoría sugiere usar ϵ antes que a para la mezcla de ambos, porque si aumenta la absorbancia también lo debe hacer la absorptividad correspondiente.

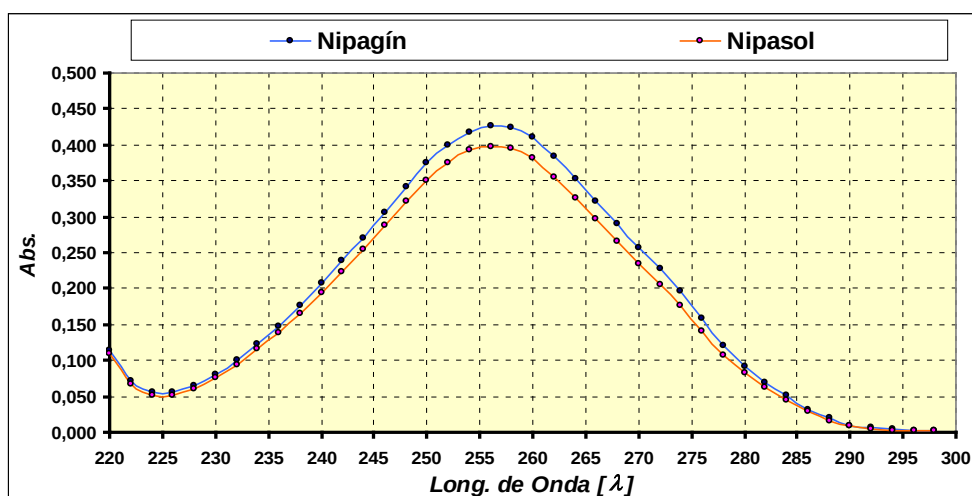
Con respecto al DS visto en la ecuación [5], este modelo cumple con el caso II, dado que

$$\epsilon_{x_1} \cdot \epsilon_{y_2} = \epsilon_{x_2} \cdot \epsilon_{y_1} \text{ o } \epsilon_{x_1} / \epsilon_{x_2} = \epsilon_{y_1} / \epsilon_{y_2}$$

y por lo tanto *los picos no se separan*, según se detalla a continuación:

BARRIDO ESPECTRAL DE NIPAGIN									
λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.
320	0,001	296	0,002	272	0,206	248	0,321	224	0,052
318	0,001	294	0,003	270	0,234	246	0,287	222	0,068
316	0,001	292	0,005	268	0,265	244	0,255	220	0,109
314	0,001	290	0,009	266	0,296	242	0,224	218	0,164
312	0,000	288	0,016	264	0,325	240	0,195	216	0,224
310	0,001	286	0,028	262	0,356	238	0,166	214	0,275
308	0,001	284	0,045	260	0,381	236	0,139	212	0,313
306	0,001	282	0,062	258	0,395	234	0,115	210	0,340
304	0,002	280	0,082	256	0,398	232	0,094	208	0,356
302	0,001	278	0,108	254	0,392	230	0,075	206	0,363
300	0,002	276	0,141	252	0,376	228	0,061	204	0,375
298	0,002	274	0,177	250	0,351	226	0,052	202	0,380

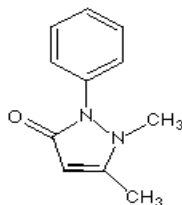
BARRIDO ESPECTRAL DE NIPASOL									
λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.
320	0,003	296	0,003	272	0,227	248	0,342	224	0,055
318	0,003	294	0,004	270	0,257	246	0,305	222	0,072
316	0,003	292	0,006	268	0,290	244	0,271	220	0,114
314	0,002	290	0,010	266	0,321	242	0,239	218	0,171
312	0,001	288	0,019	264	0,353	240	0,207	216	0,229
310	0,002	286	0,032	262	0,385	238	0,177	214	0,278
308	0,003	284	0,051	260	0,410	236	0,148	212	0,320
306	0,003	282	0,070	258	0,423	234	0,122	210	0,351
304	0,004	280	0,092	256	0,426	232	0,101	208	0,369
302	0,003	278	0,121	254	0,418	230	0,081	206	0,379
300	0,002	276	0,158	252	0,400	228	0,065	204	0,395
298	0,003	274	0,196	250	0,374	226	0,055	202	0,407



La similitud de absorción que muestran los componentes, es producto de la escasa diferencia en los efectos inductivos que poseen los grupos metilo y propilo, sobre un mismo cromóforo y a igual concentración molar.

b) COMPUESTOS CON CROMÓFOROS SEMEJANTES (λ_{MAX} cercanos)

Sustancia X: Antipirina con $\lambda_1 = 241$ nm.



Sustancia Y: 4 Amino antipirina con $\lambda_2 = 244$ nm.

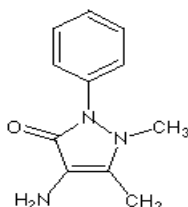


TABLA 2	$\text{cx} = 2 \times 10^{-2} \text{ g/L}$ o $1,06 \times 10^{-4} \text{ M}$ y $\text{cy} = 2 \times 10^{-2} \text{ g/L}$ o $9,84 \times 10^{-5} \text{ M}$		
	Absorbancia	Absortividad específica	Absortividad molar
Sustancia x	λ_1 : 0,603	ax_1 : 30,15 ~ 30 L/g.cm	ϵx_1 : 5688,68 ~ 5689 $\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$
	λ_2 : 0,601	ax_2 : 30,05 ~ 30 L/g.cm	ϵx_2 : 5669,81 ~ 5670 $\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$
Sustancia y	λ_1 : 0,932	ay_1 : 46,60 ~ 47 L/g.cm	ϵy_1 : 9471,54 ~ 9472 $\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$
	λ_2 : 0,936	ay_2 : 46,80 ~ 47 L/g.cm	ϵy_2 : 9512,19 ~ 9512 $\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

Según detalla la tabla 2, para la misma concentración específica en las dos especies x e y, el aumento de absorbancia producido de una a otra, se corresponde con el incremento de ambas absortividades, tanto ϵ como a en ambas sustancias. Por lo tanto, para el caso de compuestos con cromóforos semejantes y valores cercanos de λ_{max} , la teoría indica que es indistinto trabajar con ϵ o con a para analizar una mezcla de ambos.

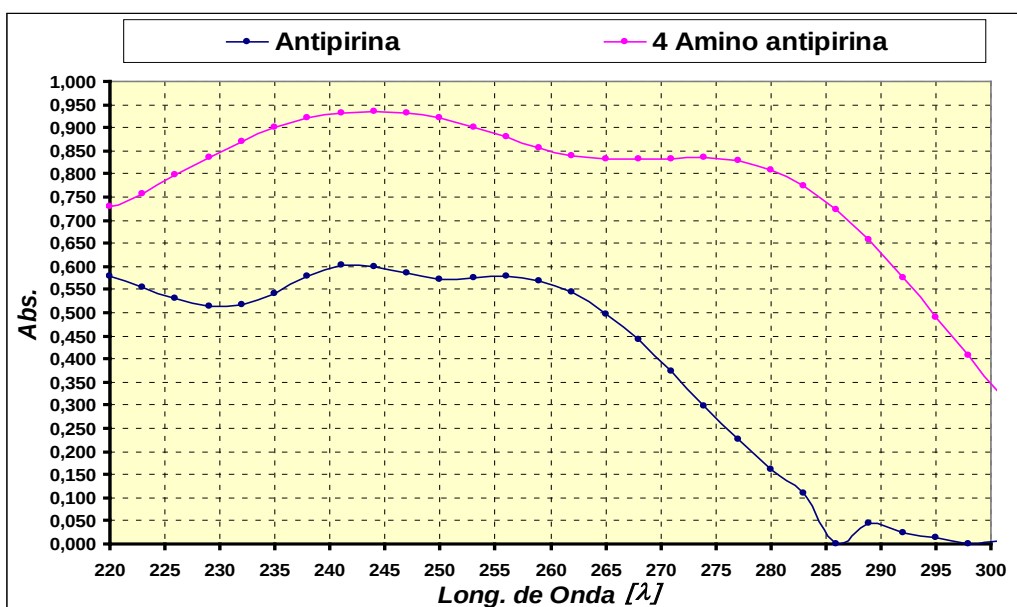
En relación al DS, aquí también se cumple con el caso II recién visto, el cual puede expresarse además, de la siguiente forma:

$$\text{ax}_1 \cdot \text{ay}_2 = \text{ax}_2 \cdot \text{ay}_1 \text{ o } \text{ax}_1 / \text{ax}_2 = \text{ay}_1 / \text{ay}_2$$

y por lo tanto *los picos no se separan*, tal como se muestra a continuación:

BARRIDO ESPECTRAL DE ANTIPIRINA									
λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.
220	0,578	256	0,578	292	0,024	328	0,006	364	0,006
223	0,554	259	0,569	295	0,015	331	0,007	367	0,006
226	0,53	262	0,544	298	0,010	334	0,006	370	0,006
229	0,515	265	0,497	301	0,008	337	0,008	373	0,006
232	0,517	268	0,443	304	0,008	340	0,007	376	0,006
235	0,542	271	0,375	307	0,007	343	0,006	379	0,006
238	0,580	274	0,299	310	0,007	346	0,006	382	0,006
241	0,603	277	0,227	313	0,007	349	0,006	385	0,006
244	0,601	280	0,161	316	0,007	352	0,006	388	0,006
250	0,573	286	0,070	322	0,006	358	0,006	394	0,006
253	0,576	289	0,043	325	0,007	361	0,006	397	0,006

BARRIDO ESPECTRAL DE ANTIPIRINA									
λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.
220	0,578	256	0,578	292	0,024	328	0,006	364	0,006
223	0,554	259	0,569	295	0,015	331	0,007	367	0,006
226	0,53	262	0,544	298	0,010	334	0,006	370	0,006
229	0,515	265	0,497	301	0,008	337	0,008	373	0,006
232	0,517	268	0,443	304	0,008	340	0,007	376	0,006
235	0,542	271	0,375	307	0,007	343	0,006	379	0,006
238	0,580	274	0,299	310	0,007	346	0,006	382	0,006
241	0,603	277	0,227	313	0,007	349	0,006	385	0,006
244	0,601	280	0,161	316	0,007	352	0,006	388	0,006
250	0,573	286	0,070	322	0,006	358	0,006	394	0,006
253	0,576	289	0,043	325	0,007	361	0,006	397	0,006



El gráfico revela curvas diferentes ya que sus cromóforos son semejantes pero no iguales, y por ello tienen distinta absorbancia para una misma concentración. La separación de sus máximos y conforme a la predicción teórica [5], resulta imposible pese al desplazamiento batocrómico que el grupo amino le confiere a y.

c) COMPUESTOS CON CROMÓFOROS DIFERENTES (con igual o similar λ_{MAX})

Sustancia X: 4 Amino antipirina con $\lambda_1 = 244$ nm. (ya visto anteriormente)

Sustancia Y: Fenilbutazona con $\lambda_2 = 244$ nm.

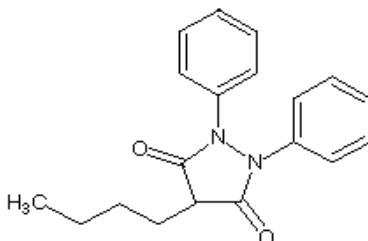


TABLA 3	$c_x = 2 \times 10^{-2}$ g/L o $9,84 \times 10^{-5}$ M y $c_y = 1 \times 10^{-2}$ g/L o $3,24 \times 10^{-5}$ M		
	Absorbancia	Absortividad específica	Absortividad molar
Sustancia x	λ_1 : 0,936	ax_1 : 46,80 ~ 47 L/g.cm	ϵx_1 : 9512,19 ~ 9512 M ⁻¹ .cm ⁻¹
	λ_2 : 0,936	ax_2 : 46,80 ~ 47 L/g.cm	ϵx_2 : 9512,19 ~ 9512 M ⁻¹ .cm ⁻¹
Sustancia y	λ_1 : 0,460	ay_1 : 46 L/g.cm	ϵy_1 : 14197,53 ~ 14198 M ⁻¹ .cm ⁻¹
	λ_2 : 0,460	ay_2 : 46 L/g.cm	ϵy_2 : 14197,53 ~ 14198 M ⁻¹ .cm ⁻¹

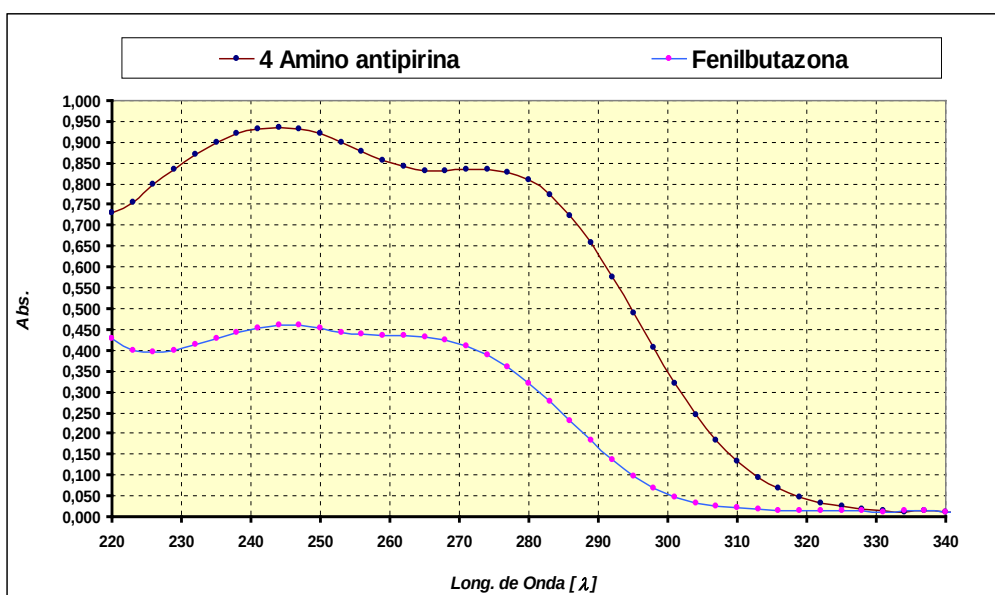
Aquí, la tabla 3 muestra que una disminución de absorbancia de x a y, es inversamente proporcional a la variación de ϵ (contrario al primer caso), mientras que a se mantiene casi constante; en base a ello, dicho cambio de absorbancia mantiene una relación lineal con la concentración específica (2:1), pero que no se cumple para la molar correspondiente (3:1), en x e y. Entonces, frente a un modelo de compuestos con cromóforos diferentes de λ_{max} iguales o similares, y poder aplicar con justicia la relación de Beer, la teoría sugiere utilizar a en lugar de ϵ para resolver la mezcla.

Según el DS tratado en [5], aquí se verifica el caso II ya visto, el cual indica que *los picos no se separan*, y también se cumple para este mismo modelo el caso III, donde:

$$ax_1 = ay_1 \text{ o } ax_2 = ay_2$$

que descubre *entre ambos picos un punto en común*, pero únicamente es admitido para las absortividades específicas, tal como se analizó en la tabla 3.

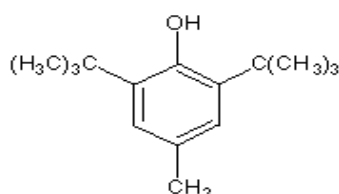
BARRIDO ESPECTRAL DE FENILBUTAZONA									
λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.
220	0,428	256	0,439	292	0,135	328	0,014	364	0,009
223	0,401	259	0,435	295	0,097	331	0,012	367	0,009
226	0,394	262	0,436	298	0,068	334	0,013	370	0,008
229	0,400	265	0,432	301	0,047	337	0,013	373	0,008
232	0,412	268	0,425	304	0,033	340	0,012	376	0,008
235	0,429	271	0,411	307	0,026	343	0,012	379	0,008
238	0,444	274	0,388	310	0,021	346	0,010	382	0,008
241	0,455	277	0,358	313	0,018	349	0,010	385	0,007
244	0,460	280	0,320	316	0,016	352	0,010	388	0,007
247	0,459	283	0,276	319	0,015	355	0,010	391	0,007
250	0,453	286	0,230	322	0,014	358	0,009	394	0,007
253	0,444	289	0,183	325	0,014	361	0,009	397	0,007



El punto isobéptico de los analitos, según muestra el gráfico y las tablas correspondientes, se detecta en bajos niveles de absorbancia, y ésta presenta en su pico máximo, una relación lineal estricta para la concentración específica de ambos componentes.

d) COMPUESTOS CON CROMÓFOROS DIFERENTES (con distinto λ_{MAX})

Sustancia X: Butil hidroxitolueno (BHT) con $\lambda_1 = 278$ nm.



Sustancia Y: Butil hidroxianisol (BHA) con $\lambda_2 = 292$ nm.

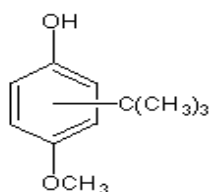


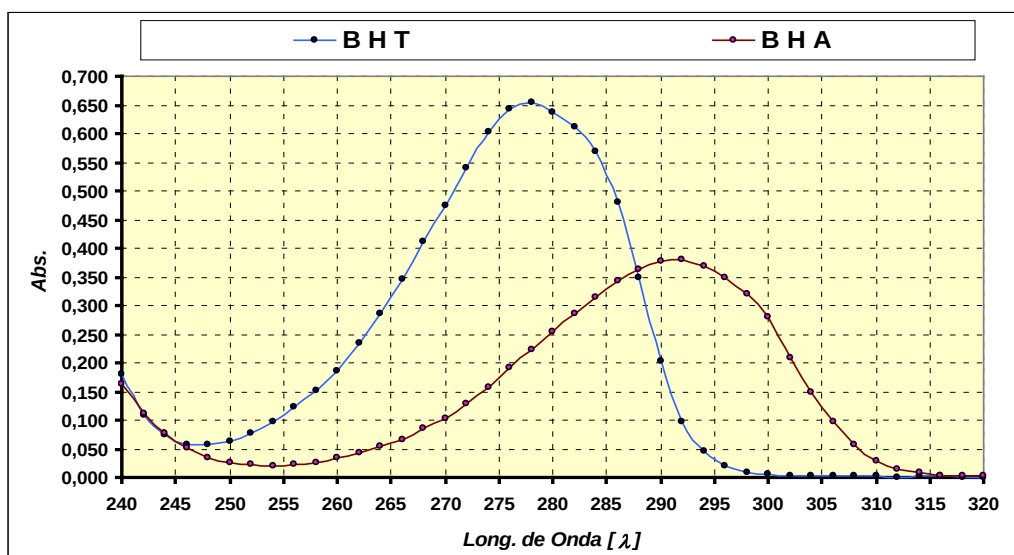
TABLA 4	$cx = 6 \times 10^{-2}$ g/L o $2,72 \times 10^{-4}$ M y $cy = 2 \times 10^{-2}$ g/L o $1,11 \times 10^{-4}$ M		
	Absorbancia	Absortividad específica	Absortividad molar
Sustancia x	λ_1 : 0,653	ax_1 : 10,88 ~ 11 L/g.cm	ϵx_1 : 2398,1 ~ 2398 M ⁻¹ .cm ⁻¹
	λ_2 : 0,098	ax_2 : 1,63 ~ 2 L/g.cm	ϵx_2 : 359,9 ~ 360 M ⁻¹ .cm ⁻¹
Sustancia y	λ_1 : 0,223	ay_1 : 11,15 ~ 11 L/g.cm	ϵy_1 : 2009,01 ~ 2009 M ⁻¹ .cm ⁻¹
	λ_2 : 0,380	ay_2 : 19 L/g.cm	ϵy_2 : 3423,42 ~ 3423 M ⁻¹ .cm ⁻¹

De acuerdo a la tabla 4, el aumento o disminución de las absorbancias, mantiene una relación directamente proporcional al incremento o disminución de sus absortividades respectivas a y ϵ . que se cumple tanto para x como para y; no obstante, dicho cambio de absorbancias muestra una estrecha relación lineal con la concentración específica del analito más que con la molar correspondiente (similar al caso anterior). A partir de ello, la teoría sugiere que en un modelo de compuestos con cromóforos y $\lambda_{\max}$ diferentes, conviene utilizar a en lugar de ϵ para analizar la mezcla de ambos.

En base al DS, este modelo cumple con el caso III recién tratado, que determina *entre ambos picos un punto en común*, e igual que antes se verifica sólo para las absortividades específicas, según el análisis reciente y cuyos valores se muestran a continuación:

BARRIDO ESPECTRAL DE BHT									
λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.
320	0,000	296	0,020	272	0,539	248	0,056	224	1,925
318	0,001	294	0,045	270	0,474	246	0,058	222	2,087
316	0,002	292	0,098	268	0,412	244	0,073	220	2,217
314	0,003	290	0,202	266	0,347	242	0,109	218	2,265
312	0,001	288	0,348	264	0,286	240	0,180	216	2,295
310	0,002	286	0,481	262	0,233	238	0,301	214	2,314
308	0,003	284	0,570	260	0,187	236	0,497	212	2,350
306	0,002	282	0,612	258	0,151	234	0,761	210	2,351
304	0,003	280	0,637	256	0,123	232	1,043	208	2,265
302	0,003	278	0,653	254	0,098	230	1,323	206	2,055
300	0,005	276	0,644	252	0,078	228	1,566	204	1,760
298	0,009	274	0,603	250	0,064	226	1,756	202	1,303

BARRIDO ESPECTRAL DE BHA									
λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.	λ [nm]	Abs.
320	0,002	296	0,348	272	0,128	248	0,035	224	0,579
318	0,002	294	0,368	270	0,104	246	0,051	222	0,550
316	0,004	292	0,380	268	0,085	244	0,076	220	0,533
314	0,008	290	0,378	266	0,067	242	0,111	218	0,529
312	0,013	288	0,363	264	0,053	240	0,164	216	0,527
310	0,028	286	0,342	262	0,042	238	0,235	214	0,525
308	0,056	284	0,315	260	0,033	236	0,328	212	0,539
306	0,097	282	0,286	258	0,027	234	0,431	210	0,594
304	0,150	280	0,255	256	0,023	232	0,520	208	0,727
302	0,208	278	0,223	254	0,021	230	0,587	206	0,954
300	0,280	276	0,191	252	0,022	228	0,616	204	1,179
298	0,320	274	0,158	250	0,026	226	0,608	202	1,052



La relación de concentraciones específicas entre ambos analitos, permite exhibir en un mismo gráfico la separación de picos, el punto isosbético y el efecto resonante del grupo metóxido con el anillo aromático en y. Esto último, justifica su mayor longitud de onda de máxima absorción, y los valores superiores de sus absorptividades, aún para una concentración tres veces menor que x.

Interpretando lo indicado anteriormente, puede concluirse lo siguiente:

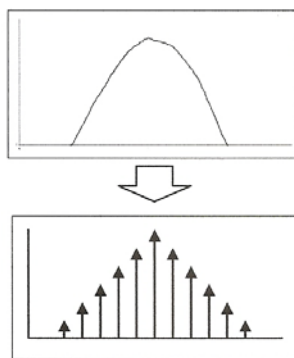
1°.- *Si las sustancias son similares y en consecuencia sus cromóforos iguales, conviene aplicar ϵ , ya que frecuentemente se conoce la masa molar, aunque también es válido trabajar con a .*

2°.- *Si las sustancias son distintas con cromóforos iguales, corresponde aplicar ϵ .*

3°.- *Si las sustancias son distintas con cromóforos semejantes, se puede usar tanto ϵ como a , según los datos que se disponga.*

4°.- *Si las sustancias son distintas con cromóforos diferentes, se debe utilizar a .*

Este enfoque a su vez, conduce a un nuevo análisis del concepto desde un punto de vista gráfico, donde se representa a la absorptividad como *la ordenada al origen de toda curva de absorción espectral, tomada a una concentración unitaria y medida a partir de su línea de base*, tal lo muestra el siguiente esquema:



De tal modo, para una determinada sustancia, la *longitud* (o altura) que tiene cada módulo de absorptividad es característico para una longitud de onda dada. Al cambiar ésta se modifica la energía de la radiación recibida y por lo tanto, también cambiará su área o superficie eficaz de captura fotónica (según un aspecto físico del significado de la absorptividad ya visto).

En otros términos, el valor numérico que tiene dicha absorptividad en un punto determinado del espectro, está directamente relacionado con la longitud del citado módulo u ordenada al origen del gráfico respectivo. Al efectuar un barrido zonal, se obtiene una sumatoria de los mismos, donde la propiedad que los caracteriza porque es medible macroscópicamente, es la absorción de la radiación dada por la propia estructura química de la sustancia.

Si se modifica la concentración de una determina especie, cambiará la absorción que la misma posee a una determinada frecuencia o longitud de onda, pero en cambio la absorptividad es siempre constante (es el producto de su valor propio por la concentración). De hecho cuando se representa la absorbancia en función de dicha concentración, la pendiente de la recta es única (siempre que se cumpla con Beer, obviamente).

CONCLUSIONES

La investigación logró recolectar una valiosa información experimental como así también, una articulación desde el plano teórico con respecto al significado de la absorptividad. Su análisis, desde distintos aspectos y constantes relaciones, configura la base para futuras aplicaciones al desarrollo analítico. En suma, el trabajo cumplió satisfactoriamente con el objetivo propuesto al principio y la hipótesis fue confirmada por los datos obtenidos en el laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Sham YY and Joens JA. (1995) Temperature dependent near UV molar absorptivities of several small aldehydes in aqueous solution. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 51 (2): 247-251.
- (2) Malik M and Joens J. (2000) Temperature dependent near UV molar absorptivities of glyoxal and gluteraldehyde in aqueous
- (3) Saavedra A H y González PA (2008). Detección de antioxidantes en fármacos y alimentos por HPLC en fase reversa. *Rev Fac Cs Exactas Quím Naturales-UM* 6: 27-40.
- (4) Saavedra AH y González PA. (2007) Detección simultánea de parabenos en fármacos y cosméticos por HPLC en fase reversa. *Rev Fac Cs Exactas Quím Naturales-UM* 5: 69-78.
- (5) Maye M.M, Han L, Kariuki NN, Ly NK, Chan WB, Luo J and Zhong CJ. (2003) Gold and alloy nanoparticles in solution and thin film assembly: spectrophotometric determination of molar absorptivity. *Analytica Chimica Acta* 496 (1-2): 17-27.
- (6) Zhu CQ, Chen JL, Zheng H, Wu YQ and Xu JG. (2005). A colorimetric method for fluoride determination in aqueous samples based on the hydroxyl deprotection reaction of a cyanine dye. *Analytica Chimica Acta* 539 (1-2): 311-316.
- (7) González A, Irusta L, Fernández-Berridi MJ, Iruin JJ, Sierra T and Oriol L. (2006) Determination of the self-association and inter-association equilibrium constants of a carboxylic acid and its mixtures with pyridine derivatives. *Vibrational Spectroscopy* 41 (1): 21-27.
- (8) Huang XL and Zhang JZ. (2006) Surfactant-sensitized malachite green method for trace determination of orthophosphate in aqueous solution. *Analytica Chimica Acta* 580 (1): 55-67.
- (9) Sladewski TE, Shafer AM and Hoag CM. (2006) The effect of ionic strength on the UV-Vis. Spectrum of congo red in aqueous solution. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 65 (3-4): 985-987.
- (10) Ahmed IS and Amin AS. (2007) Spectrophotometric microdetermination of phenylephrine hydrochloride in pure and in pharmaceutical formulations using haematoxylin. *Jour Molec Liquids* 130 (1-3): 84-87.
- (11) Mansour S, Galil A, Mahadevaiah MS, Kumar Y and Nagendrappa G. (2007) A simple and rapid spectrophotometric method for the determination of nitrite by its decolorizing effect on peroxovanadate complex. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 67 (1): 76-82.
- (12) Saavedra AH y Carrea JM. (2009) Reevaluación de la absorptividad: importancia y propiedades en la investigación de nuevas sustancias farmacéuticas. *Rev Fac Cs Exactas Quím Naturales-UM* 7: 9-35.
- (13) Kolthoff I. M., Bruckenstein S. y otros. *Análisis Químico Cuantitativo*. Editorial Nigar Sexta Edición. 1988.

BIODISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES MINERALES

Mirta Eva Valencia¹, Patricia Ana Ronayne de Ferrer^{1*} y María Luz Pita Martín de Portela²

^{1,2} Cátedra de Bromatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA

³ Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 2º p, CA de Buenos Aires. Argentina.

* Dirigir la correspondencia a: P Ronayne de Ferrer. Cátedra de Bromatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Junín 956 2p (1113) CA Buenos Aires. pferrer@ffyb.uba.ar

CONTENIDOS

RESUMEN	18
SUMMARY	19
INTRODUCCIÓN.....	19
NUTRIENTES PRIORITARIOS PARA DETERMINAR LA BIODISPONIBILIDAD	19
MÉTODOS PARA DETERMINAR BIODISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES	23
MÉTODOS <i>IN VIVO</i> EN HUMANOS O ANIMALES	23
TÉCNICAS ISOTÓPICAS	24
MÉTODOS <i>IN VITRO</i>	24
FACTORES QUE CONDICIONAN LA BIODISPONIBILIDAD DE MINERALES	24
BIODISPONIBILIDAD DE CALCIO EN ALIMENTOS Y SUPLEMENTOS.....	26
BIODISPONIBILIDAD DE HIERRO EN ALIMENTOS Y EN SUPLEMENTOS	28
ALIMENTOS FORTIFICADOS CON HIERRO	29
BIODISPONIBILIDAD DE ZINC EN ALIMENTOS Y EN SUPLEMENTOS	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

RESUMEN

La cantidad de nutrientes de un alimento determinada por métodos químicos no indica la utilización por el organismo. Para ello, es importante tener en cuenta el concepto de *biodisponibilidad* que informa acerca de “*la proporción del nutriente ingerido que puede ser digerido, absorbido y metabolizado o utilizado por el organismo para los fines que le son propios*”. Los nutrientes están sujetos a interacciones con otros componentes de la matriz alimentaria o con los que se agregan en la fortificación de alimentos, con el objeto de subsanar problemas nutricionales de elevada prevalencia a nivel regional o mundial. Esas interacciones pueden modificarse durante el procesado y/o almacenamiento, afectando su digestibilidad, absorción y/o utilización y, por ende, la biodisponibilidad. Los estudios de biodisponibilidad se dificultan por los mecanismos homeostáticos del organismo. Las técnicas pueden emplear métodos *in vivo* (en animales de laboratorio o en humanos, desde los clásicos estudios de balance hasta los más sofisticados con isótopos estables) o estudios *in vitro*, que varían en complejidad y costo. Sin embargo, dependen del nutriente considerado y no evalúan en todos los casos la totalidad de los factores que determinan la biodisponibilidad. De especial importancia son los alimentos diseñados para grupos vulnerables, en los cuales es necesario calcular la cantidad a agregar a un determinado alimento, así como prever el impacto en la corrección del problema nutricional que se pretende solucionar. Dada la complejidad del tema es necesario identificar los nutrientes y alimentos críticos en los que es importante su evaluación. Los minerales mas estudiados por la elevada prevalencia de su deficiencia son

calcio, hierro y zinc, en los que una formulación adecuada puede incrementar la biodisponibilidad mediante el agregado de potenciadores de absorción, eliminación de inhibidores y prevención de interacciones negativas.

Palabras clave: Carbohidratos no digeribles, disponibilidad de minerales, osteoporosis, fibra

SUMMARY

The amount of a nutrient assessed by chemical methods in foods does not represent its real body utilization. To this aim, the concept of *bioavailability* must be taken into account: *it is the proportion of an ingested nutrient that can be digested, absorbed and metabolized or utilized by the organism for specific purposes*. Nutrients are subjected to interactions with other components of the food matrix or those added to fortify foods in order to correct nutritional problems of high prevalence at either regional or worldwide levels. These interactions may change during processing and/or storing, thus affecting nutrient digestibility, absorption and/or utilization, and hence bioavailability. Bioavailability studies are difficult to perform because of body homeostatic mechanisms. Techniques may employ *in vivo* methods (in experimental animals or humans, from the classical balance methods to the more sophisticated using stable isotopes) or *in vitro* studies, which differ in complexity and costs. However, they depend on the considered nutrient and do not evaluate in all situations all the factors involved in bioavailability. Of special importance are those foods designed for vulnerable groups in which it is necessary to calculate the amount to add to a particular food as well as to foresee the impact on the correction of the nutritional problem intended to be solved. Given the complexity of the subject, it is important to identify the critical nutrients and foods in which this evaluation is relevant. The most studied minerals, because of their high prevalence of deficit, are calcium, iron and zinc, for which an adequate formulation may increase their bioavailability by means of the addition of absorption enhancers, the elimination of absorption inhibitors and the prevention of negative interactions.

Key words: non-digestible carbohydrates, mineral availability, osteoporosis, fibre

INTRODUCCIÓN

La cantidad de un nutriente presente en un alimento, determinada por métodos químicos, no es indicador de su utilización por el organismo, sino que es importante tener en cuenta el concepto de *biodisponibilidad*, definida como “*la proporción del nutriente ingerido que puede ser digerido, absorbido y metabolizado o utilizado por el organismo para los fines que le son propios*” [1]

Los nutrientes ingeridos no existen aislados en el alimento y están sujetos a interacciones con otros nutrientes o componentes presentes naturalmente en la matriz alimentaria. El proceso digestivo debe permitir su transporte a través de la mucosa intestinal, pero las interacciones de nutrientes con otros compuestos de la dieta pueden modificar los procesos digestivos, inhibiendo o facilitando los procesos de transporte. Los nutrientes absorbidos deben ser capaces de ser transportados hasta los distintos tejidos para ser utilizados por el organismo y para que puedan participar en los procesos metabólicos en los que son necesarios. Además, la utilización depende de las interacciones en el organismo así como del estado de nutrición del individuo lo que implica que la biodisponibilidad representa la integración de una interacción entre la dieta y el individuo que la consume [2]. Esas interacciones pueden modificarse durante el procesado y/o almacenamiento, afectando su digestibilidad, absorción y/o utilización y, por ende, su biodisponibilidad.

Por otra parte, el agregado de nutrientes a los alimentos es cada vez más frecuente con el objeto de subsanar deficiencias nutricionales de elevada prevalencia a nivel regional o mundial [3]. Para ello es de primordial importancia conocer la biodisponibilidad del nutriente agregado con objeto de poder anticipar no sólo la cantidad que es necesario agregar a un determinado alimento, sino también prever el impacto en la corrección del problema nutricional que se pretende solucionar.

Los principales factores que influyen en la biodisponibilidad figuran en el cuadro 1 y se pueden clasificar en: fisiológicos, dependientes del sujeto y los dependientes del alimento [4].

Cuadro 1

Principales factores que influyen en la biodisponibilidad de nutrientes

Fisiológicos Dependientes del sujeto	Alimentarios Dependientes de la matriz alimentaria
➤ Grupo etario	➤ Composición de la matriz alimentaria
➤ Estado nutricional del individuo	➤ Contenido intrínseco del alimento
➤ Ingesta previa	➤ Forma química del nutriente
➤ Eficiencia del proceso digestivo	➤ Presencia de otros componentes y/o sustancias bioactivas
➤ Tiempo de tránsito intestinal	➤ Agregado de componentes extrínsecos: ej. Ingredientes, aditivos, fortificantes, etc.
➤ Situaciones especiales	➤ Procesado y/o almacenamiento
➤ Enfermedades gastrointestinales	
➤ Patologías diversas	

Para los minerales, el concepto de biodisponibilidad implica que éstos deben encontrarse en forma soluble al pH del tracto gastrointestinal donde se realiza su absorción. Los ligandos capaces de formar complejos solubles y absorbibles incrementan la biodisponibilidad mineral. Los más efectivos son aquellos que poseen una constante de estabilidad suficientemente elevada como para minimizar la interacción con posibles ligandos de la matriz alimentaria capaces de formar complejos insolubles. Por otra parte, los mecanismos homeostáticos del organismo inciden en parte en la amplitud de los rangos de absorción de minerales y de vitaminas, por factores de la matriz alimentaria o de la dieta. Entre otros factores, pueden mencionarse la presencia del nutriente en estructuras resistentes al proceso digestivo y la asociación intrínseca o interacción en el tracto gastrointestinal con otros componentes que disminuyen su absorción [1, 2, 4].

Dada la complejidad del tema es de importancia fundamental conocer cuáles son los nutrientes críticos para priorizar en qué tipo de alimentos es importante evaluar la biodisponibilidad [5-6]

NUTRIENTES PRIORITARIOS PARA DETERMINAR LA BIODISPONIBILIDAD

Los principales alimentos aportadores a la dieta de los nutrientes críticos deben ser los más controlados en cuanto a la incidencia de procesos, nuevos métodos de preservación y nuevas formulaciones, donde se recurre al reemplazo de materias primas tradicionales, con la consiguiente variación en el aporte de nutrientes y/o factores potenciadores o inhibidores de su biodisponibilidad. De especial importancia son los alimentos destinados a grupos vulnerables, que consumen pocos alimentos (lactantes, ancianos y pacientes hospitalizados que reciben alimentación enteral o parenteral) en los cuales las materias primas, el procesado y

el almacenamiento tienen gran importancia, sobre todo al nivel de proteínas y diversos micronutrientes. Otro aspecto a considerar especialmente son los alimentos fortificados y enriquecidos, formulados para cubrir requerimientos fisiológicos particulares y en los que la formulación y procesamiento pueden tener gran importancia nutricional por su impacto en la biodisponibilidad.

Los países industrializados de Europa y los EEUU de Norte América presentan, actualmente, baja prevalencia de enfermedades por deficiencias nutricionales. La mayoría de los adultos consume una cantidad suficiente de una dieta variada que cubre sus requerimientos de energía y de macro y micronutrientes esenciales. Sin embargo, existen grupos vulnerables (por ej. lactantes, individuos de tercera edad) en los que la ingesta de ciertos nutrientes puede encontrarse a niveles riesgosos, presentándose cada vez con mayor prevalencia algunas deficiencias nutricionales, y síntomas clínicos de su deficiencia [7-8].

La metodología empleada para la determinación de los alimentos prioritarios. Se basa en conocer la disponibilidad promedio diaria para el consumo interno, "per capita", de los principales alimentos de la canasta familiar, mediante el análisis de las Hojas de Balance de Consumo aparente de alimentos, editadas por FAO [9]. Pese a las fluctuaciones en la capacidad de compra, esa disponibilidad de alimentos básicos, en Argentina, ha sufrido pocas modificaciones en las últimas décadas, observándose que el trigo constituye el alimento principal de las dietas nacionales y las carnes en segundo lugar (tabla 1) [9] [10] .

Tabla 1
Consumo aparente promedio diario de los principales alimentos que componen la canasta familiar, en Argentina

	1992-1994 **	FAO, año 2000 #	FAO, año 2009#
	g/día/habitante	g/día/habitante	g/día/habitante
Harina de trigo	302	317	251
Carne de vaca	177	164	148
Carne de cerdo	16	22	22
Leche (leche fluida+lácteos)	539	606	530
Papas	139	135	96
Cítricos	131	93	106
Azúcar	98	103	130
Manzana	35	40	37
Tomate	63	54	43
Pollo	48	77	92
Aceites	43	46	38
Huevo	17	39	30

** FAO, Hojas de Balance de Alimentos, Colección FAO: Estadística número 131, Roma 1996 Ref. 9.

FAO, Hojas de Balance de Alimentos, Colección FAO, Roma 2000 y 2009 (ref 10).

Se consideran alimentos prioritarios aquellos que aportan, en total, hasta 80% de las Ingestas Diarias Recomendadas (IDR) de los nutrientes críticos [5]. La transformación de alimentos consumidos a nutrientes se ha realizado mediante el Programa SARA [11], basado en los datos de la Tabla de Composición de Alimentos de ARGENFOODS y la Base de Datos de LATINFOODS, teniendo en cuenta el consumo promedio de los alimentos de la tabla anterior. La comparación de la ingesta media diaria de los nutrientes con las ingestas diarias recomendadas permite calcular la cantidad promedio de nutrientes disponibles para el consumo y el porcentaje de cobertura de las Ingestas Recomendadas para población adulta [12]. En la Tabla 2 puede observarse que los nutrientes probablemente deficitarios son: calcio, hierro, zinc y vitamina A, mientras que de los demás habría disponibilidad de alimentos para permitir el consumo de cantidades adecuadas para cubrir las IDR. En el caso de los nutrientes minerales críticos se destaca la importancia de determinar la biodisponibilidad.

Tabla 2
Ingesta promedio de los nutrientes prioritarios de Argentina y porcentaje de adecuación de las Ingestas Diarias Recomendadas del adulto

Nutrientes	Ingesta promedio diaria "per capita"	Porcentaje de las IDR
Calcio	775 mg*	78
Hierro	19 mg &	Variable según biodisponibilidad
Zinc	16,5 mg	
Vitamina A	410 µg	68-82 #
Tiamina	3,6 mg &	100
Vitamina C	69 mg	100
Riboflavina	2,2 mg &	100
Niacina	18 mg	100
Folatos	1081 µg &	100
Proteínas	106 g	100
Energía	2544 Kcal	100

& Considerando la harina enriquecida con Fe, tiamina, riboflavina, niacina y ácido fólico.

Según las IDR de FAO para varones y mujeres.

Se debe tener en cuenta que la harina de trigo está enriquecida en tiamina, riboflavina, niacina y ácido fólico, por lo cual no se observa deficiencia de esas vitaminas.

Por otra parte, la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNYS) de Argentina realizada en los años 2004-2005, en niños y mujeres entre 10 y 49 años, proporcionó, por primera vez, información representativa para el total del país, sus provincias y regiones geográficas [13]. Los resultados evidenciaron que, en el caso de las mujeres, el calcio fue uno de los nutrientes más críticos, con 94,3% de mujeres que presentaron una ingesta menor a la IDR (de 1000 mg para este grupo), independiente de su localización geográfica, situación socioeconómica o edad. En el caso de los niños menores de 2 años 28% no cubrían la ingesta adecuada de este mineral, mientras que en el grupo de 2 a 5 años esta cifra llegaba al 45,6%. Esos resultados evidencian que el calcio es uno de los nutrientes más críticos en mujeres y niños [13]. Otros nutrientes con alta prevalencia de inadecuación en el grupo de mujeres de 10 a 49 años fueron las vitaminas A, C y B₁₂. Para las embarazadas varios son los nutrientes que por su elevado porcentaje de inadecuación requieren especial atención: hierro, calcio, vitamina A y zinc, entre los principales (Tabla 3).

Tabla 3
Porcentaje de individuos con ingesta inadecuada de energía, proteínas y nutrientes minerales. Total país
 [13]

	Niños y niñas de 6 a 23 meses	Niños y niñas de 2 a 5 años	Mujeres de 10 a 49 años	Embarazadas
Energía	31,7	29,1	57,8	64,3
Proteínas	3,3	0,90	19,0	29,1
Hierro	19,8	3,1	19,4	59,3
Calcio	28,0	45,6	94,3	88,5
Zinc	11,6	4,2	33,5	52,1

Estos resultados tienen características comunes a algunos trabajos previos publicados por diferentes grupos de investigación, evidenciando que los nutrientes conflictivos pueden variar según el grupo poblacional considerado [14]. En ellos deberán ser especialmente cuidados no sólo en sus aspectos cuantitativos sino en su biodisponibilidad.

MÉTODOS PARA DETERMINAR BIODISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES

El concepto de biodisponibilidad de nutrientes, en nutrición, es conceptualmente semejante al de fármacos. Sin embargo, el estudio de su biodisponibilidad por los métodos farmacocinéticos clásicos es complicado, entre otras cosas, por las concentraciones no farmacológicas en que se hallan en los alimentos, por sus niveles endógenos, por los procesos homeostáticos que tienden a regular las concentraciones dentro de rangos muy estrechos y, para algunos nutrientes, por la falta de conocimientos sobre la cinética de recambio y excreción y la posible formación de compuestos bioactivos durante los procesos metabólicos.

Las técnicas para su estudio pueden usar métodos *in vitro* o *in vivo*. Los métodos *in vivo*, pueden utilizar animales de laboratorio o realizarse en humanos. En ambos casos, varían en complejidad y costo, desde los clásicos estudios de balance hasta los más sofisticados con isótopos estables. Sin embargo, dependen del nutriente considerado y no evalúan en todos los casos la totalidad de los factores que determinan la biodisponibilidad [15].

Métodos *in vivo* en humanos o animales

Pueden basarse en:

- 1) Reversión de los síntomas de una deficiencia específica evaluando la respuesta de una variable fisiológica: ej: test de regeneración de hemoglobina en ratas anémicas, recomendado por AOAC, evaluar la biodisponibilidad de compuestos de hierro utilizados como productos farmacéuticos y aprobados por la FDA para ser utilizados en la fortificación de alimentos [16].
- 2) Respuesta de los niveles en sangre y/o de la eliminación por orina
- 3) Evaluación de retención corporal (estudios de balance, masa o isótopos)
- 4) Medida de la absorción aparente o real del nutriente en estudio determinado por métodos químicos o utilizando isótopos radioactivos o estables.
- 5) Captación por tejidos de isótopos radioactivos o estables utilizando marcación intrínseca o extrínseca del alimento en estudio (Ej. Iodo por tiroides)

La metodología de balance se basa en determinar [17]:

Absorción aparente = Ingerido (I) – Fecal (F)

Retención neta = I – [F – U (urinario)- otras pérdidas]

Retención verdadera = I – (F-Fm) – (U –Um) - otras pérdidas

La Retención verdadera indicaría la Biodisponibilidad, pero su validez está cuestionada en muchos casos cuando se determina en animales experimentales, por la dificultad de extrapolar los resultados al humano, por múltiples causas. No obstante es un método orientativo de gran valor en investigación.

Los estudios de biodisponibilidad, fundamentalmente los relativos a micronutrientes, presentan una gran variabilidad inter-individuos. De hecho, como se señala en el cuadro 1, existen gran número de factores no relacionados a las características del alimento que pueden influir en la proporción de nutriente absorbido.

Estos factores deben ser tenidos en cuenta en el diseño experimental, tratando de uniformar las condiciones de los ensayos y, de ser posible, utilizando patrones de referencia que minimicen las diferencias inter-individuales. Más aún, al formular alimentos para grupos vulnerables con requerimientos fisiológicos particulares o desórdenes o enfermedades gastrointestinales deberían tenerse en cuenta al evaluar la real biodisponibilidad que tendrán los nutrientes en tales individuos

Algunos ejemplos de rangos de absorción fraccional de ciertos minerales permiten poner en evidencia que el organismo no es una máquina completamente eficiente para hacer un uso máximo de los nutrientes ingeridos. Entre los factores endógenos son importantes el grado de saturación de los depósitos corporales, el tamaño corporal y el estado fisiológico del individuo [18].

Técnicas isotópicas

Las técnicas isotópicas pueden utilizar marcación extrínseca o intrínseca. Las técnicas radioisotópicas en humanos están siendo desaconsejadas y reemplazadas por las que utilizan isótopos estables. Estas últimas están restringidas por su costo y requerimientos de equipamiento especiales. En el cuadro 1 se enumeran los principales isótopos utilizados en la evaluación de la biodisponibilidad en humanos [15, 19].

Cuadro 1

Principales isótopos utilizados en la evaluación de la biodisponibilidad mineral en humanos.

• Radioactivos	• Estables
▪ Hierro: ^{55}Fe ^{59}Fe	▪ Hierro: ^{57}Fe ^{58}Fe
▪ Calcio: ^{45}Ca ^{47}Ca	▪ Calcio: ^{42}Ca ^{44}Ca
▪	▪ Magnesio: ^{25}Mg ^{26}Mg
▪ Zinc: ^{65}Zn	▪ Zinc: ^{67}Zn ^{70}Zn
▪	▪ Selenio ^{74}Se
▪ Cobre ^{67}Cu ^{64}Cu	▪ Cobre ^{63}Cu ^{65}Cu

Métodos in Vitro

Los métodos *in Vitro* pueden referirse a métodos para determinar la absorción o la biodisponibilidad de nutrientes de naturaleza orgánica (como proteínas, vitaminas, aminoácidos) y métodos que, en el caso de minerales, miden la solubilidad, la dializabilidad o la incorporación de micronutrientes en cultivos celulares.

En el caso de los nutrientes minerales los primeros métodos se han basado en medir la solubilidad a un pH similar al del estómago. Ej. En el caso del hierro se expresaba el resultado como Valor Biológico en relación a un compuesto de referencia como el sulfato ferroso.

Actualmente, uno de los métodos más estudiados se basa en determinar la dializabilidad del elemento en estudio. El método de Miller y col. [20], modificado por Wolfgor y col. [21] incluye una digestión enzimática que simula el proceso fisiológico en condiciones controladas de pH, la diálisis en un medio de pH regulado y la posterior cuantificación de los minerales en el dializado por espectrometría de absorción atómica. La dializabilidad mineral (Dmineral) se expresa como porcentaje de cada mineral en el dializado en relación a su concentración en el digerido.

$$\text{Dializabilidad \%} = (\text{mg de mineral en el dializado} / \text{mg de mineral en el digerido}) \times 100$$

El aporte potencial de cada mineral (AP) en los distintos productos se establece teniendo en cuenta su concentración y dializabilidad.

$$\text{Aporte potencial de cada mineral} = ([\text{mineral}] \times \text{Dmineral \%}) / 100$$

FACTORES QUE CONDICIONAN LA BIODISPONIBILIDAD DE MINERALES

- Entre los factores que influyen en la biodisponibilidad de minerales se pueden enumerar [22]: **Forma química:** Ej: hierro: hemínico/no hemínico [23]; selenio: orgánico/inorgánico
- **Solubilidad:** entre los factores que afectan solubilidad de los minerales se incluyen la valencia, la presencia de otras especies iónicas libres, la presencia de aniones que contienen O₂
- **Formación de complejos orgánicos/inorgánicos:** dependientes del peso molecular, afinidad, constantes de estabilidad y solubilidad.
- **Presencia de compuestos que actúan como ligandos,** formando compuestos de coordinación, hidrólisis e hidratación. Uno de los más conocidos es el complejo fitato-calcio-zinc, extremadamente insoluble al pH de la parte superior del intestino delgado donde se absorbe la mayor proporción del zinc.
- **Actividad redox de otros componentes del alimento**
- **Interacción mineral-mineral** [24]
- **Otras interacciones:** ej. Flavonoides, etc.

En cuanto al efecto de los factores mencionados sobre la biodisponibilidad mineral es importante tener en cuenta el concepto de inhibidores y potenciadores. En el cuadro 2 se enumeran los principales potenciadores e inhibidores de la biodisponibilidad de minerales [25].

Inhibidores: ligandos que forman complejos insolubles, no absorbidos por su baja solubilidad y/o elevada constante de estabilidad.

Potenciadores: ligandos que forman complejos solubles, absorbibles por formar complejos que por su solubilidad y constante de afinidad permiten su transferencia a los receptores de la mucosa intestinal.

Cuadro 2

Inhibidores	Potenciadores
➤ <i>Fitatos: unión a cationes formando compuestos de baja solubilidad (Zn, Fe, Ca, Mg)</i>	➤ <i>Ácidos orgánicos: cítrico, láctico, butírico, etc.,</i>
➤ <i>Fosfatos</i>	➤ <i>Ácido ascórbico (hierro)</i>
➤ <i>Proteínas vegetales y lácteas</i>	➤ <i>Proteína celular animal y amino ácidos (histidina, metionina)</i>
➤ <i>Polifenoles</i>	➤ <i>Lípidos y algunos ácidos grasos;</i>
➤ <i>Complejos insolubles con Fe</i>	➤ <i>Carbohidratos: lactosa</i>
➤ <i>Fibra</i>	➤ <i>Prebióticos</i>
➤ <i>Ácido oxálico</i>	➤ Quelantes como EDTA
➤ <i>Ácidos grasos saturados de cadena larga</i>	

El ácido fólico es un importante inhibidor del aprovechamiento de minerales, como hierro y zinc, debido a la formación de quelatos, que impiden su absorción a través de la mucosa intestinal [26].

BIODISPONIBILIDAD DE CALCIO EN ALIMENTOS Y SUPLEMENTOS

El calcio es ionizado en el medio ácido del estómago, según sus características químicas. En el intestino interacciona con las secreciones digestivas y con los demás componentes de la dieta, formando complejos con constantes de estabilidad y solubilidad dependientes del pH intestinal, que condicionan la absorción. Los factores que favorecen la solubilidad y la absorción son algunas proteínas, aminoácidos y péptidos, el ácido cítrico, la lactosa y algunos otros compuestos que forman complejos solubles o modifican el pH intestinal. La relación calcio/fósforo juega un papel muy importante en la absorción del calcio ya que el exceso de fósforo forma fosfatos de calcio de baja solubilidad. Los factores que disminuyen la absorción del calcio por formación de complejos insolubles son oxalato [27], fitato, ácidos grasos de cadena larga, fluoruro, fosfato, componentes de la fibra y cationes bivalentes que interacción por un mecanismo competitivo. El calcio que se mantiene soluble en todo el intestino delgado es absorbido por diversos mecanismos y es incorporado al tejido óseo conjuntamente con el fósforo formando la hidroxiapatita [28, 29]

Por dicho motivo, la evaluación de la biodisponibilidad del calcio no es fácil y se asume que la absorción es sinónimo de biodisponibilidad [1]. La absorción puede determinarse mediante metodología de balance o isótopos, radioactivos (^{45}Ca , ^{47}Ca , limitados a mujeres post-menopáusicas o varones adultos) o estables (^{42}Ca , ^{44}Ca), que se pueden utilizar en adultos jóvenes, mujeres en edad fértil, niños y adolescentes. Existen trabajos que determinan la absorción en ratas y otros que aplican la dializabilidad "in vitro", proporcionando resultados que se pueden considerar aproximados para extrapolarlos al humano. Algunos más recientes utilizando isótopos estables se han utilizado en niños y adolescentes para medir absorción y biodisponibilidad.

La absorción en una dieta mixta, aplicando el método de balance, se considera que oscila entre 30-40% en el adulto; aunque puede ser mayor en niños y adolescentes [30]. En la figura se señalan los valores publicados por diversos autores acerca de absorción de calcio de alimentos aislados, de dietas reales y de compuestos de calcio utilizados con fines farmacológicos o en la fortificación de alimentos. Como puede observarse la absorción de calcio, determinada con ^{45}Ca en mujeres postmenopáusicas, arrojó resultados entre 21 y 26% para leche entera, leche chocolatada, yogur, sucedáneos de la leche, queso y carbonato de calcio [31].

La absorción de calcio en mujeres jóvenes presenta un amplio rango, atribuido a la diferente cantidad de grasa y de fibra en las dietas utilizadas [32].

Los cereales integrales y la soja contienen alta proporción de fósforo, bajo la forma de fitato, que disminuye la absorción de calcio. El efecto inhibitorio del fitato de la soja fue estudiado en mujeres normales, utilizando soja, con alto o bajo contenido de fitato, intrínsecamente marcada con ^{45}Ca (30% vs 41.4%) [33]. Sin embargo, algunas especies animales, como los rumiantes son capaces de hidrolizar los fitatos por poseer una fitasa en la microflora intestinal, lo cual permite aumentar la biodisponibilidad del calcio y otros nutrientes minerales. Este conocimiento se está aplicando a nivel industrial para aumentar la absorción de calcio en algunos productos elaborados, agregando fitasas.

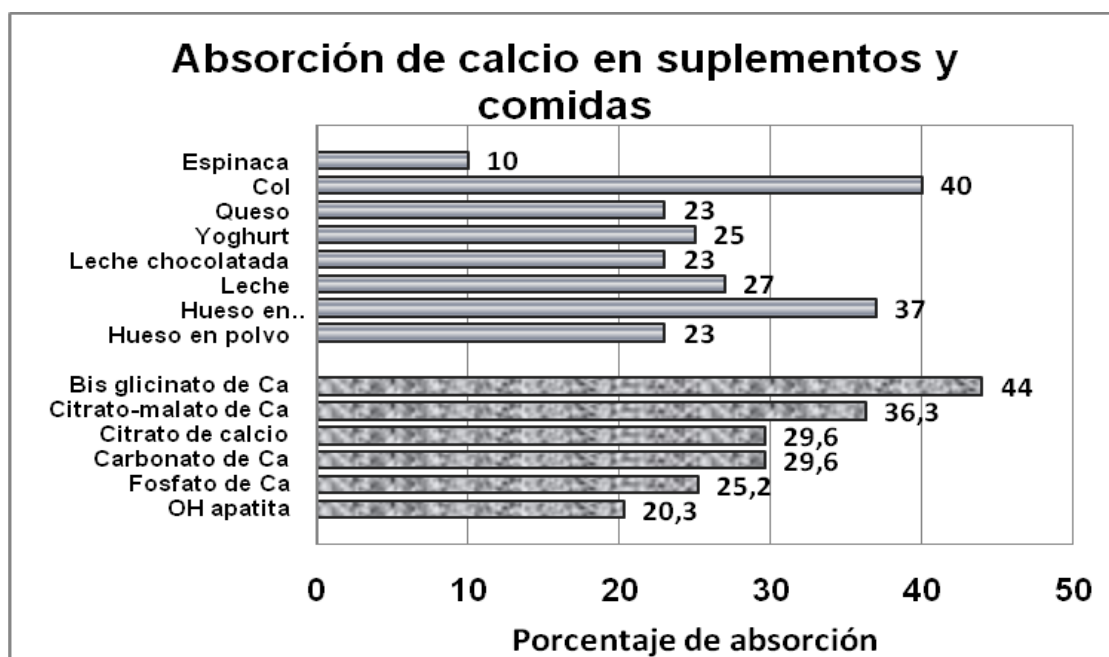
El efecto inhibitorio de la fibra sobre la absorción de calcio se ha atribuido al efecto del pH, basándose en estudios *in vitro*. Sin embargo, los estudios de absorción de dietas altas o bajas en fibra, en individuos añosos con aclorhidria, utilizando ^{47}Ca y retención de calcio en cuerpo entero, no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en relación a individuos sanos (19.6 a 21% vs 26%) [34].

Por otra parte, algunos alimentos vegetales (ej. tubérculos) contienen carbohidratos complejos no digeribles, como inulina y oligofructosa, denominados prebióticos, que estimulan el crecimiento de la

microflora colónica produciendo ácidos grasos de cadena corta que favorecen la absorción de calcio. Esos compuestos presentan también efectos inmunitarios beneficiosos sobre la salud en la prevención del riesgo de enfermedades y están siendo utilizados para el desarrollo de ciertos alimentos funcionales [35]

Por lo antedicho, los individuos lacto-vegetarianos son capaces de consumir calcio suficiente para mantener la masa ósea si incluyen lácteos en su dieta y vegetales como col, raíces y tubérculos, que presentan una absorción entre 41 y 65%, por contener baja cantidad de oxalato y sustancias promotoras de la absorción [36, 37]

Figura 1



La leche humana presenta una óptima biodisponibilidad del calcio para el niño lactante, por la presencia de factores potenciadores de la absorción, con valores cercanos al 60%. [22, 38]. Sin embargo, la absorción del calcio es menor en los niños alimentados con fórmulas lácteas, por la diferencia cuali y cuantitativa en su composición: tipo de ácidos grasos, de proteínas y relación calcio/fósforo. Por ello, en las fórmulas para lactantes, se debe modificar la relación agregando sales de calcio y tener en cuenta las fuentes utilizadas de proteicas y de lípidos. Por dicho motivo se precisan mayores ingestas para lograr la misma retención que en los niños alimentados con leche materna. Por otra parte, en el caso de recuperación de niños desnutridos puede llegar a 80% [22, 30, 39].

Existen otras fuentes de calcio no tradicionales que podrían aportar cantidades importantes. La cáscara de huevo está constituida en su mayor parte por carbonato de calcio, aportando cerca de 2 g de calcio/unidad. La evaluación de la absorción del carbonato de calcio en humanos y la absorción del calcio de la cáscara de huevo, en ratas, muestra que la absorción es elevada. La utilización de la cáscara de huevo molida, con tratamiento térmico que asegure la inocuidad microbiológica, podría ser utilizada como un ingrediente de diversos productos elaborados, en los que no altera las características organolépticas, contribuyendo a incrementar la ingesta de calcio [40, 41]

El amaranto es un cultivo americano actualmente revalorizado que aporta calcio entre otros minerales. Sin embargo, la harina integral del grano, presenta factores antinutricionales en los tegumentos externos. La evaluación de la dializabilidad del calcio ha evidenciado que el proceso de fermentación del pan, sumado al

agregado de fitasas y promotores de minerales podría ser favorable para mejorar la biodisponibilidad mineral [42].

El consumo de maíz nixtamalizado constituye un aportador importante de calcio en las regiones donde se lo consume habitualmente como Centro América [43]. En el norte argentino persisten hábitos alimentarios heredados de la cultura andina, que incluyen al maíz como un insumo culinario clave. Una de las formas de consumirlo es bajo la forma de mote, que se prepara mediante la cocción y remojo de los granos en una solución alcalina (cal o cenizas), lo que incrementa su contenido de calcio [44]. Otros alimentos tradicionales en la región son los elaborados a base de harina de algarroba, fruto del algarrobo blanco (*Prosopis alba*), que se caracteriza por un importante aporte de calcio [45].

BIODISPONIBILIDAD DE HIERRO EN ALIMENTOS Y EN SUPLEMENTOS

La deficiencia de hierro ocupa el tercer lugar entre las nutricionales y se estima que afecta al 30% de la población mundial [46]; su incidencia es mayor en los países en vías de desarrollo, siendo los grupos más vulnerables los menores de 2 años, embarazadas, adolescentes y mujeres en edad fértil. En América Latina constituye, en general, la segunda carencia nutricional y la prevalencia puede alcanzar en ciertas poblaciones infantiles más de 80% [22]. Su principal causa es la baja ingesta y/o biodisponibilidad de hierro de la dieta, asociada a la presencia de parasitosis intestinales, malnutrición proteico-calórica o aumento de las necesidades. La presencia en la dieta de componentes que afectan de modo variable la absorción del hierro hace que la ingesta no se correlacione con la biodisponibilidad y utilización, pudiendo existir anemia ferropénica pese a ingestas de hierro aparentemente adecuadas.

En base a métodos de balance y a la utilización de ^{59}Fe en varones adultos se han establecido distintas cifras de biodisponibilidad promedio en la dieta, según los alimentos que predominen:

- **baja** (5 %): dietas a base de cereales como base de la alimentación (maíz, trigo integral, sorgo, etc.), legumbres, raíces y/o tubérculos, con cantidad despreciable de carnes, pescados y vitamina C. Son predominantes en grupos de bajo nivel socio-económico de países en vías de desarrollo.
- **intermedia** (10 %): dietas a base de cereales, raíces y/o tubérculos, con consumo bajo de carnes, pescados y vitamina C.
- **alta** (15 %): dietas variadas conteniendo cantidades generosas de carnes, pescados y vitamina C. Son las típicas de la mayor parte de la población de los países industrializados. En el caso particular de la dieta de USA y Canadá o países con dietas similares en cuanto al consumo de carnes la biodisponibilidad promedio se ha comprobado que es de 18%. Sin embargo, pueden pasar a ser de biodisponibilidad intermedia por aumento del consumo de inhibidores de la absorción (café, té, etc.).

Existen algoritmos para calcular la absorción y biodisponibilidad de hierro en función de la composición de la dieta, teniendo en cuenta la presencia de factores inhibidores (fitato, calcio, polifenoles, proteínas de soja y huevo), potenciadores (ácido ascórbico, aporte de carnes y Fe hemínico) y estado nutricional (en función de los niveles de ferritina sérica) [25]

En los productos elaborados a base de cereales, el efecto inhibitorio se observa tanto sobre el hierro no hemínico intrínseco como sobre el hierro de fortificación, cuando se utiliza sulfato ferroso [47, 48, 49]. Aun los derivados parcialmente degradados, tetra y penta fosfatos del ácido fítico (y parcialmente el trifosfato) forman complejos insolubles con hierro a un pH cercano a la neutralidad [50]. Por el contrario, en el caso del

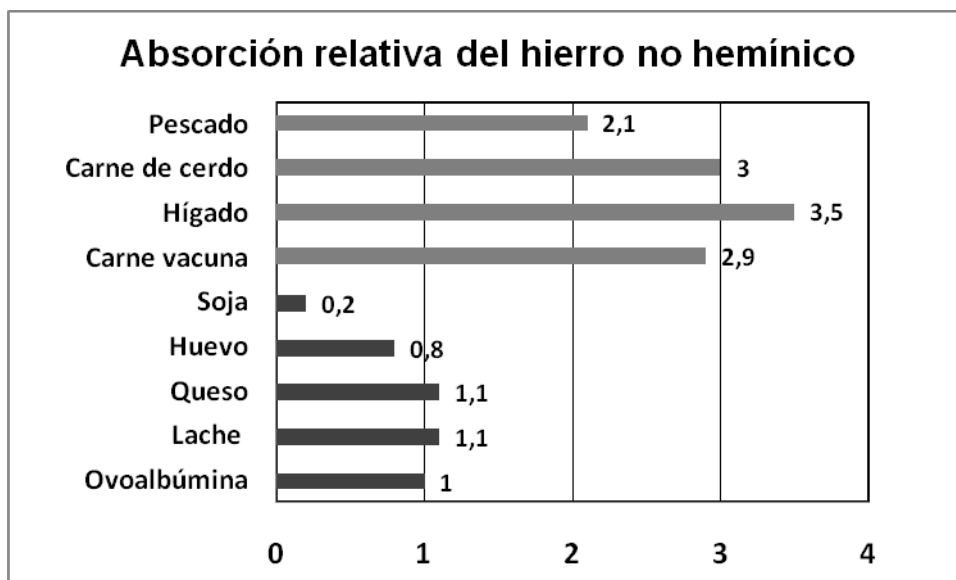
zinc, la defosforilación del ácido fítico a derivados mono a tetra fosfatos, resulta suficiente para evitar la interferencia sobre la absorción [51].

Alimentos fortificados con hierro

Una de las estrategias propuestas para combatir las deficiencias de micronutrientes consiste en la fortificación/enriquecimiento de alimentos y/o administración de suplementos dietarios o hierro farmacológico. En esos casos es necesario elegir la fuente más adecuada del nutriente a utilizar, y, en el caso de alimentos, la formulación y los procesados que optimicen su biodisponibilidad potencial.

Como ya se mencionó, la biodisponibilidad depende de la matriz alimentaria y de la forma química del nutriente a agregar. En el caso particular del hierro, es necesario tener en cuenta que muchas proteínas, disminuyen la biodisponibilidad del hierro no hemínico, excepto las proteínas celulares animales (carnes) que la potencian (figura 2).

Figura 2 (adaptada de cita 52)



Ciertos componentes de los vegetales como polifenoles y fitatos presentes en la fibra dietaria también la disminuyen.

Existen además, diversas interacciones con otros minerales y con vitaminas con dispar influencia sobre la biodisponibilidad, como por ejemplo los efectos positivos de la vitamina A sobre la utilización del hierro y fundamentalmente de la vitamina C, que es el potenciador más efectivo conocido.

Por otra parte, es de suma importancia la forma química del hierro empleado para la fortificación. En el caso de los diversos compuestos que suelen emplearse existe una dicotomía entre su valor biológico y su reactividad que es muy particular: a mayor valor biológico (mayor biodisponibilidad), estos compuestos poseen una mayor reactividad, es decir un mayor efecto prooxidante y, por ende, menor compatibilidad con el alimento (Tabla 4). A la inversa, los compuestos de menor biodisponibilidad poseen mayor compatibilidad desde el punto de vista organoléptico. Más allá de los defectos organolépticos (color, olor, sabor y solubilidad), puede haber cambios a nivel de las características nutritivas del alimento (53).

El agregado de fuentes de hierro de baja reactividad y baja biodisponibilidad no permite una fortificación efectiva. En la última década se han realizado numerosas investigaciones para hallar nuevas fuentes (quelatos como el glicinato férrico, EDTA-Fe) que posean buena biodisponibilidad en diferentes matrices alimentarias y baja reactividad (54, 55, 56).

La matriz alimentaria y los procesos térmicos, fermentativos, etc. e inclusive las condiciones de conservación y duración del almacenamiento del alimento influyen en la biodisponibilidad del hierro de fortificación.

Además, los polifenoles y taninos también son importantes inhibidores de la absorción del hierro no hemínico, ya que forman compuestos insolubles (25). Ciertos cereales, como el sorgo rojo y el mijo africano, pueden contener altos niveles de estos compuestos (53).

TABLA 4
Valor biológico relativo y compatibilidad con el alimento de fuentes de Fe usadas en la fortificación

Compuestos listados En el Code of Federal Regulation	V.B.R.	Reactividad
Sulfato ferroso	100	Alta
Citrato férrico amónico	107	
Citrato de hierro-colina	102	
Gluconato ferroso	97	
Fumarato ferroso	95	
Lactato ferroso	-	
Fe elemental (electrolítico)	38-76* 5-20**	
Fe elemental(reducido)	18-54* 5-20**	
Fe elemental (proceso carbonílico)	64-69* 5-20**	
Pirofosfato férrico	45	Baja
Pirofosfato férrico sódico	14	
Fosfato férrico	3-46	Compatibilidad alta

V.B.R.(valor biológico relativo)

*Valores determinados en ratas **V.B. en humanos con método doble isotópico

Como ya se mencionó, en Argentina se enriquece la harina de trigo con sulfato ferroso en una concentración de 30 ppm desde el año 2003, a consecuencia de la promulgación de la ley 25.630, en la que se establece además el enriquecimiento con vitaminas B₁, B₂, niacina y ácido fólico.

En los alimentos fortificados presentes en el mercado se observan diversas fuentes de hierro, aparte del sulfato ferroso, entre ellos el fumarato ferroso, hierro elemental y glicinato férrico/ferroso (57).

BIODISPONIBILIDAD DE ZINC EN ALIMENTOS Y EN SUPLEMENTOS

La biodisponibilidad del Zn depende de factores exógenos y endógenos. Dentro de los exógenos o dietarios la cantidad de Zn en la dieta, las proteínas, el calcio y el ácido fítico condicionan la cantidad de Zn absorbido.

La fermentación puede causar la hidrólisis del fitato (inositol hexafosfato) a inositoles fosfatos de menor tamaño. El pan no fermentado contiene mayor cantidad de fitato que el pan fermentado y la omisión del proceso de fermentación es uno de los factores asignados como responsables de la deficiencia de zinc en Irán y Egipto (22, 58). Esta hidrólisis mejora la absorción del zinc y del hierro no hemínico. El alcance de la reducción de la concentración de fitato varía durante la fermentación; a veces el 90% o más puede eliminarse por fermentación, por ejemplo en maíz, sorgo y soja (59).

El efecto inhibitorio del ácido fítico puede superarse no sólo a través de su degradación, sino también con el agregado de promotores de la absorción (60). En panes elaborados con harina de trigo y de amaranto se observó un incremento significativo de la disponibilidad de hierro y zinc con el agregado de ácido cítrico y fitasas (42).

Aspectos de importancia en la preparación y formulación de alimentos

La biodisponibilidad de los nutrientes agregados en los alimentos es, por lo tanto, de suma importancia si se quiere realizar un enriquecimiento efectivo.

La fortificación de alimentos requiere el cumplimiento de requisitos mínimos para que su implementación logre las metas nutricionales deseadas. Los criterios generales enunciados por el Food and Nutrition Board de la National Academy of Sciences para llevar a cabo la fortificación/enriquecimiento de alimentos son:

- Comprobación de que la ingesta de un nutriente está por debajo del nivel deseable en las dietas de un número significativo de personas.
- El alimento a fortificar, elegido como vehículo, debe ser consumido en cantidades que aseguren un aporte significativo y constante en las dietas de las poblaciones que presentan una ingesta insuficiente del nutriente en cuestión.
- La fortificación no debe crear desequilibrio de nutrientes esenciales.
- Los nutrientes agregados deben ser fisiológicamente disponibles en el alimento fortificado.
- El alimento fortificado debe ser estable en condiciones de almacenamiento y uso normales.
- Existe seguridad razonable de que no ocurra ingesta excesiva o efectos adversos.

Se debe tener en cuenta que la formulación y el procesado pueden influir en forma positiva en la biodisponibilidad de los minerales (59). Por ejemplo:

- En el proceso de molienda de cereales se elimina fibra (fitatos, taninos);
- En los procesos de extrusión se produce degradación de fitatos;
- En los procesos fermentativos y de germinación hay degradación de fitatos por acción de las fitasas.
- El proceso mecánico de golpear es utilizado para remover el salvado y/o el germen de los cereales. Este proceso reduce en parte el contenido de fitatos cuando estos están localizados en la parte externa de la aleurona (arroz, sorgo, trigo) o en el germen, en el caso de maíz, aumentando de esta manera la biodisponibilidad del hierro, zinc y calcio. Sin embargo, el contenido total se reduce simultáneamente.

- El remojado reduce el contenido total de fitatos en las harinas de maíz y arroz, ya que están almacenados en una forma relativamente soluble en agua y, por lo tanto, se remueven por difusión
- La adición de fitasas resulta útil para incrementar la biodisponibilidad de minerales. Estudios recientes han mostrado que la absorción de hierro y zinc puede incrementarse mediante la reducción del ácido fítico, ya sea a través del agregado de fitasas a trigo, maíz, arroz y avena (61) o por medio del uso de variedades de maíz que lo contienen en baja proporción (62, 63, 64).
- Sin embargo, en los cereales con altas concentraciones de taninos la actividad de las fitasas está inhibida produciendo una fermentación menos efectiva (65).

Como se mencionó previamente, la preparación de la tortilla de maíz por nixtamalización involucra el tratamiento con agua de cal, que deriva en un importante aumento del aporte de calcio a la dieta habitual (58); sin embargo, su biodisponibilidad estaría disminuida por el fitato presente. Estudios de Hambidge y otros (66) mostraron un incremento significativo de la absorción de calcio en tortillas preparadas con una variedad de maíz de bajo contenido en fitatos.

Otras opciones para optimizar la biodisponibilidad mineral incluyen: reducir la ingesta de polifenoles, que son abundantes en té, café y mate; aumentar la ingesta de promotores de la absorción del hierro no hemínico y del zinc, como ácido ascórbico; incluir productos animales en las comidas, que promueven la absorción del hierro y el zinc proveniente de los alimentos vegetales.

Una formulación adecuada puede incrementar los nutrientes biodisponibles a través no sólo de la fortificación, sino también de la incorporación de potenciadores de absorción, la eliminación de inhibidores y la prevención de interacciones negativas (67).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Gordon DT and Peilett L. (1992) Physical and Chemistry properties of nutrients affecting their absorption and utilization. Chap 10. In: Physical Chemistry of Sahwartrberg HG and Hartel RW. Ed. Marcel Decker Inc. NY. Basel. H Kong.
- 2) Miller DD. (2000) Minerales. En: Química de los alimentos. Fennema OR, Ed. Acribia, Zaragoza; 633-734.
- 3) Situación alimentaria y nutricional de América Latina. (1993) Conferencia Internacional sobre Nutrición, FAO, Oficina Regional para América Latina y el Caribe, OMS/OPS, Santiago de Chile (CHILE).
- 4) Wapnir RA. (1990) Protein Nutrition and Mineral Absorption. CRC Press, Boca Raton, Florida (USA); 334 pp.
- 5) Haytowitz DB, Pehrsson PR, Holden J M. (2002) The Identification of Key Foods for Food Composition Research. J Food Comp Anal; 15:183-94
- 6) Greenfield H and Southgate DTA. (2006). Datos de Composición de Alimentos: Obtención, Gestión y Utilización Segunda Edición. FAO. Roma, Italia:
- 7) . Ljungqvist O and de Man F. (2009) Desnutrición, un problema sanitario de gran magnitud en Europa Nutr Hosp; 24: 368-70
- 8) NHANES. Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-94. National Center for Health Statistics. (1997) Department of Health and Human Services (DHHS). U.S. Series 11 Number 1A. ASCII Version. Hyattsville, MD: Centers for Disease Control and Prevention. USA.
- 9) Hojas de Balance de Alimentos, Colección FAO: (1996) Estadística número 131, FAO, Roma, Italia.
- 10) FAO, Hojas de Balance de Alimentos, Colección FAO (2000 y 2009) Roma, Italia. En: www.fao.org/waicent/faostat/agricult/fbs-s.htm Consultado julio 2013
- 11) Programa SARA (Sistema de Análisis y Registro de Alimentos). Programa informático para Análisis de Encuestas Alimentarias. (2005). Dirección Nacional de Salud Materno Infantil. Ministerio de Salud. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/htm/site/ennys/site/sara.asp> Consultado julio 2013

- 12) Pita Martín de Portela ML. (2006). Ingestas recomendadas de nutrientes: evolución histórica. En: Energía y macronutrientes en la Nutrición del siglo XXI. Pita Martín de Portela ML. La Prensa Médica Argentina, Buenos Aires (Argentina); 23-37.
- 13) Ministerio de Salud. Encuesta Nacional de Nutrición y Salud. Buenos Aires, Argentina. Documento de Resultados. (2007). Disponible en: www.msal.gov.ar Consultado julio 2013
- 14) Pita Martín de Portela MLPM, Río ME y Slobodianik N. (1997). Aplicación de la bioquímica a la evaluación del estado nutricional. Ed. López, Buenos Aires.
- 15) Drago SR, Valencia ME. (2008) Biodisponibilidad y métodos de determinación. En "Minerales en Alimentos y Dietas Iberoamericanas", CYTED, Editora SBAN, San Pablo, Brasil; 111-42.
- 16) Association of Official Analytical Chemistry. 14 th ed. (1984). Bioavailability of iron. Hemoglobin repletion bioassay. Official method 974.31. AOAC, USA.
- 17) Hegsted DM. (1976) Balance studies. J Nutr; 106: 307–11.
- 18) Finch C. (1994) Regulators of iron balance in humans. Blood; 84: 1697–702.
- 19) Lee WTK, Jiang J, Hu P, Hu X, Roberts DCK and Cheng JCY. (2002) Use of stable (^{42}Ca & ^{44}Ca) in evaluation of calcium absorption in Beijing adolescents with low vitamin D status. Food and Nutrition Bulletin; 23 Suppl 3: 42-7
- 20) Miller D, Schricker B, Rasmussen R and Darrel Van Campen. (1981) An "in vitro" method for estimation of iron availability from meals. Am J Clin Nutr; 34: 2248-56.
- 21) Wolfgor R, Drago SR, Rodríguez V, Pellegrino NR and Valencia M. (2002) In vitro measurement of available iron in fortified foods. Food Research International; 35: 85-90
- 22) Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation Bangkok, Thailand (2001). Human Vitamin and Mineral Requirements. 1ª edición. FAO. Food and Nutrition Division. Roma. 151-180; 195-222; 257-270; 300-301.
- 23) Cook JD, Reddy MB. (2001) Effect of ascorbic acid intake on nonheme iron absorption from a complete diet. Am J Clin Nutr; 73: 93–8.
- 24) Reddy MB, Cook JD. (1997) Effect of calcium intake on nonheme-iron absorption from a complete diet. Am J Clin Nutr; 65: 1820–5.
- 25) Hallberg L, Hulthén L. (2000) Prediction of dietary iron absorption: an algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. Am J Clin Nutr; 71:1147–60.
- 26) Hallberg L, Rossander L, Skanberg AB. (1987). Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. Am J Clin Nutr; 45: 988-96.
- 27) Heaney RP and Weaver CM. (1989) Oxalate: effect on calcium absorbability. Am J Clin Nutr; 50: 830-2.
- 28) Heaney RP and Recker RR. (1985) Estimation of true calcium absorption. Ann Int Med; 103: 516-21.
- 29) Bronner F and Pansu D. (1999) Nutritional aspects of calcium absorption. J Nutr; 129: 9-12.
- 30) Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. A. (2010) Ross C, Taylor CL, Yaktine AL and Del Valle HB, Editors. Committee to Review. Food and Nutrition Board & Institute of Medicine, National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- 31) Recker RR, Aarti Bammi, RD; Barger-Lux MJ, and Heaney RP. (1988) Calcium absorbability from milk products, an imitation milk, and calcium carbonate. Am J Clin Nutr; 47: 93-5.
- 32) Wolf RL, Cauley JA, Baker CE, Ferrell RE, Charron M, Caggia AW, Salamone LM, Heaney RP and Kuller LH. (2000) Factors associated with calcium absorption efficiency in pre- and perimenopausal women. Am J Clin Nutr; 72: 466–71.
- 33) Heaney RP, Weaver CM and Fitzsimmons ML. (1991) Soybean phytate content: effect on calcium absorption. Am J Clin Nutr; 53: 745-7.
- 34) Knox TA, Kassarian Z, Dawson-Hughes B, Dallal GE, Sanjeev Arora and Russell RM. (1991) Calcium absorption in elderly subjects on high- and low-fiber diets: effect of gastric acidity. Am J Clin Nutr; 53: 1480-6.
- 35) Martin BR, Braun MM, Wigertz K, Bryant R, Zhao Y, Lee W, Kempa-Steczko A, Weaver CM. (2010) Fructo-oligosaccharides and calcium absorption and retention in adolescent girls. J Am Coll Nutr; 29 (4):382-6.
- 36) Heaney RP and Weaver CM. (1990) Calcium absorption from kale. Am J Clin Nutr; 51: 656-7.
- 37) Weaver CM and Plawecki KL (1994) Dietary calcium: adequacy of a vegetarian diet. Am J Clin Nutr; 59 (suppl):1238S-41S.
- 38) Abrams SA, Wen J, Staff JE. (1997) Absorption of Calcium, Zinc, and Iron from Breast Milk by Five- to Seven-Month-Old Infants. Ped Res; 41, 384–390
- 39) Portela ML; Zeni S; Piazza N; Garcia N and Río ME. (1983) Calcium balance in infants recovering from undernutrition and dietary calcium/protein ratio. Nutr Rep Int; 28, 1091-9.
- 40) Ascar J, De Bortoff MA y Salinas E. (1993) Cáscara de huevo como suplemento cálcico en la alimentación humana. La Alimentación Latinoamericana; 197: 61-4.

- 41) Brun LR, Lupo M, Delorenzi DA, Di Loreto VE and Rigalli A. (2013) Chicken eggshell as suitable calcium source at home. *Int J Food Sciences Nutr*; In press.
- 42) Dyner L, Drago S, Piñeiro A, Sánchez H, González R y Valencia ME. (2007) Composición y aporte potencial de hierro, calcio y zinc de panes y fideos elaborados con harinas de trigo y amaranto. *Arch Latinoamer Nutr*; 57: 69-77.
- 43) CastilloVKC, Ochoa MLA, Figueroa CJD, Delgado LE, Gallegos IJA, Morales CJ. (2009). Contenido de calcio en maíz nixtamalizado, según temperatura y concentración de hidróxido de calcio. *Arch Latinoamer Nutr*; 59 (4) 425-32.
- 44) Binaghi MJ; Greco C; Sammartino GV; Garda R; Pinotti L; Ronayne P. (2012) Aporte y disponibilidad potencial de minerales en preparaciones tradicionales del norte argentino. *Actualización en Nutrición*; 13 (2): 90-99.
- 45) Astrada E, Caratozzolo M, Blasco C, Quiroga L, Ronayne P, Vigilante J. (2008) Potencialidad alimentaria del bosque nativo del Chaco argentino: una experiencia prometedora basada en la harina de algarroba (*Prosopis alba*). *Trabajos IV Congreso Internacional ALFATER: "Alimentación, Agricultura Familiar y Territorio"*; 1-26
- 46) Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. (2001) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary References Intakes, Food and Nutrition Board & Institute of Medicine, National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- 47) Cook JD, Reddy MB, Burri J, Juillerat MA, Hurrell RF. (1997) The influence of different cereal grains on iron absorption from infant cereal foods. *Am J Clin Nutr*; 65: 964-969.
- 48) Gillooly M, Bothwell TH, Charlton RW, Torrance JD, Bezwoda WR, MacPhail AP, Derman DP, Novelli L, Morrall P, Mayet F. (1984) Factors affecting the absorption of iron from cereals. *Brit J Nutr*, 51: 37-46.
- 49) Hallberg L, Brune M, Rossander L. (1986). Effect of ascorbic acid on iron absorption from different types of meals. Studies with ascorbate rich foods and synthetic ascorbic acid given in different amounts with different meals. *Hum Nutr Appl Nutr*; 40 A: 97-113.
- 50) Sandberg AS, Brune M, Carlsson NG, Hallberg L, Skoglund E, Rossander-Hulthen L. (1999) Inositol phosphates with different numbers of phosphate groups influence iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr*; 70: 240-6.
- 51) Hurrell RF, Reddy MB, Juillerat M-A, Cook JD. (2003) Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects. *Am J Clin Nutr*; 77: 1213-9.
- 52) Cook JD, Monsen ER. (1976) Food iron absorption in human subjects. III. Comparison of the effect of animal proteins on nonheme iron absorption. *Am J Clin Nutr*; 29: 859-67.
- 53) Hurrell RF & Cook J D (1990). Strategies for iron fortification of foods. *Trends in Food Science & Technology*; 1: 56-61.
- 54) Iron Deficiency. (1998) Report of a joint FAO/WHO/PAHO Meeting of the Working Group on Iron Deficiency, Oslo, Norway
- 55) Fox TE, Eagles J, Fairweather-Tait SJ. (1998) Bioavailability of iron glycine as a fortificant in infant foods. *Am J Clin Nutr*; 67: 664-81.
- 56) Langini S, Carbone N, Galdi M, Barrio Rendo ME, Portela ML and Valencia M.E. (1988) Ferric Glycinate Iron availability in infant formulas determined by extrinsic radioisotopic labelling. *Nutrient Availability: Chemical and Biological Aspects*. D.A.T. Southgate, Johnson and Fenwick ed., Norwick (U.K.). 167-70
- 57) Wolfgor R, Rodriguez V, Pellegrino N y Valencia ME. (1996) Evaluación de cereales fortificados como aportadores de hierro. *Revista de la Sociedad Argentina de Nutrición*; 7: 33-7.
- 58) Portela MLPM. (2003). Vitaminas y minerales en nutrición. 2da. Ed. La Prensa Médica Argentina, Buenos Aires; 147 pp..
- 59) Hotz C, Gibson RS. (2007) Traditional Food-Processing and Preparation Practices to Enhance the Bioavailability of Micronutrients in Plant-Based Diets. *J Nutr*; 137: 1097-100
- 60) Hurrell RF, Reddy MB, Burri J, Cook JD. (2002) Phytate degradation determines the effect of industrial processing and home cooking on iron absorption from cereal-based foods. *Brit J Nutr*; 88: 117-23.
- 61) Hurrell RF, Reddy MB, Marcel-A Juillerat, and Cook JD. (2003) Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects *Am J Clin Nutr*; 77:1213-9.
- 62) Mendoza C, Viteri FE, Lönnnerdal B, Young KA, Raboy V, Brown KH. (1998) Effect of genetically modified, low-phytic acid maize on absorption of iron from tortillas. *Am J Clin Nutr*; 68: 1123-7.
- 63) Adams C, Hambidge M, Raboy V, Dorsch JA, Sian L, Westcott JL, Krebs N. (2002) Zinc absorption from a low-phytic acid maize. *Am J Clin Nutr*; 76: 556-9.
- 64) Hambidge M, Huffer JW, Raboy V, Grunwald G, Westcott JL, Sian L, Miller L, Dorsch JA, Krebs N. (2004) Zinc absorption from low-phytate hybrids of maize and their wild-type isohybrids. *Am J Clin Nutr* 79: 1053-9.
- 65) Sandberg A-S. (1991) The effect of food processing on phytate hydrolysis and availability of iron and zinc. In: Friedman M, editor. *Nutritional and toxicological consequences of food processing*. New York: Plenum Press; 499-508.

- 66) Hambidge M, Krebs N, Westcott JL, Sian L, Miller L, Peterson K, Raboy V. (2005) Absorption of calcium from tortilla meals prepared from low-phytate maize. *Am J Clin Nutr*; 82: 84-7.
- 67) Drago SR, Valencia ME. (2008) Minerales en la nutrición humana. En: *Minerales en Alimentos y Dietas Iberoamericanas*, CYTED, Editora SBAN, San Pablo, Brasil; 43-66.

CARBOHIDRATOS NO DIGERIBLES COMO INGREDIENTES FUNCIONALES: RELACIÓN CON LA DISPONIBILIDAD DE MINERALES Y CON LA PREVENCIÓN DE LA OSTEOPOROSIS

Adriana Weisstaub¹, Angela Zuleta^{2(*)}.

¹Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (UBA) Junín 956, 1113 CABA.

².Cátedra de Bromatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (UBA) Junín 956, CABA (1113)

(*)Autor a quien dirigir la correspondencia. Angela Zuleta: .Cátedra de Bromatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica, (UBA), Junín 956, CABA (1113) Universidad de Buenos Aires TELEFAX: + 54 11 4964 8243 Mail: azuleta@ffyb.uba.ar

CONTENIDOS

RESUMEN	36
ABSTRACT	37
INTRODUCCIÓN	37
ALIMENTOS FUNCIONALES:	38
FIBRA Y PREBIÓTICOS: ESTRUCTURA Y MÉTODOS DE DETERMINACIÓN	38
EFFECTO SOBRE LA FUNCIÓN INTESTINAL	39
PREBIÓTICOS Y CALCIO	40
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

RESUMEN

Las recomendaciones actuales de las metas nutricionales de macronutrientes se dirigen no sólo a disminuir los riesgos de desnutrición, sino también los riesgos de desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles, relacionadas con la alimentación. Los prebióticos, ingredientes no digeribles de los alimentos, estimulan el crecimiento y actividad de bacterias intestinales beneficiosas para la salud. Su fermentación colónica, produce ácidos grasos de cadena corta, que provocan disminución del pH cecal, aumentando la solubilidad y absorción minerales en el colon, como el calcio. El conocimiento de los fundamentos científicos sobre composición, biodisponibilidad y efectos sistémicos (parámetros bioquímicos, mineralización ósea, etc) de carbohidratos no digeribles en los alimentos de mayor consumo permitirá diseñar alimentos funcionales que proporcionen beneficios nutricionales en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles, relacionadas con la alimentación. Se necesita conocer en profundidad los cambios que se producen, a fin poder seleccionar la opción más saludable. La mayor parte de la información de estos productos está basada principalmente en los diferentes tipos de ingredientes que integran las mezclas, pero es necesario conocer los estudios que sustentan su funcionalidad. Si bien en nuestro país no hay legislación específica sobre alimentos funcionales, las autorizaciones de los mismos, exigen comprobación de su efectividad. Por lo tanto, esos conocimientos resultan imprescindibles a la hora de rotular y aplicar alegaciones de sus beneficios saludables, a la luz de las nuevas reglamentaciones, nacionales e internacionales del tema, para la comercialización de los mismos.

Palabras clave: Carbohidratos no digeribles, disponibilidad de minerales, osteoporosis, fibra

ABSTRACT

The recommendations regarding macronutrient nutritional goals are addressed, at present, not only to reduce the risk of malnutrition, but also the risk of development of chronic noncommunicable diseases (NCDs) related to food. Prebiotics, non-digestible ingredients of foods and stimulate the growth of beneficial intestinal bacteria activity for health. Colonic fermentation produces short chain fatty acids, which causes decrease cecal pH which increases the solubility in the colon and thereby facilitate the absorption of minerals such as calcium. The update of concepts on the subject and review of work on composition, bioavailability and systemic effects (biochemical parameters, bone mineralization, etc.) of non-digestible carbohydrates in foodstuffs consumed, will increase the knowledge of the scientific foundations of the benefits nutritional therefore. They need to know in depth the changes that occur in order to choose the healthier option. At present the information for these products is mainly based on the different types of ingredients that make up the mixtures, but these products often lack of studies that support its functionality, which goes beyond the mere quantification of their components. Although our country there is no specific legislation on functional foods authorizations thereof, require verification of their effectiveness. This is essential when it comes to label and apply health benefits claims, in light of the new regulations, national and international issue.

Key words: non-digestible carbohydrates, mineral availability, osteoporosis, fibre

Abreviaturas:

CHO: Carbohidratos

ECNT: Enfermedades crónicas no transmisibles

GOS: Galactooligosacáridos

FOS: Fructooligosacáridos

FD: Fibra dietaria

g: gramo

GP: grado de polimerización

PM: peso molecular

AGCC: ácidos grasos de cadena corta

FS: fibra soluble

FI: fibra insoluble

Ca: calcio

INTRODUCCIÓN

Las recomendaciones de las metas nutricionales de macronutrientes se dirigen, en la actualidad, no sólo a disminuir los riesgos de desnutrición, sino también los riesgos de desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) relacionadas con la alimentación (1).

La reunión de expertos FAO/OMS, en 2007, sobre carbohidratos en la nutrición humana acordó que su consumo mínimo debe ser de un 55 % de las calorías totales, aporte calórico que debe corresponder principalmente a carbohidratos (CHO) complejos de lenta digestión. Esta recomendación enfatiza el consumo

de alimentos que cumplan con esta condición y se distancian del marco conceptual que consideraba a todos los CHO complejos como poseedores de propiedades fisiológicas similares. En consecuencia, los alimentos altos en almidones poco digeribles adquieren una relevancia especial, ya que contribuyen a cumplir las metas nutricionales, junto a otras recomendaciones más específicas, como son disminuir el consumo de azúcares simples y aumentar el de fibra dietética (2).

ALIMENTOS FUNCIONALES:

La definición propuesta indica que “un alimento puede considerarse funcional si se demuestra satisfactoriamente que ejerce un efecto beneficioso sobre una o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de modo tal que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas” (3).

Los Alimentos Funcionales, diseñados especialmente con componentes pueden contribuir de manera específica y positiva, promoviendo un efecto fisiológico más allá de su valor nutritivo tradicional. De allí el interés en la búsqueda de nuevas fuentes como ingredientes en el desarrollo de alimentos que aporten estas características (4).

Los polisacáridos que integran la fibra dietaria pasan por el intestino delgado sin ser degradados, pero en el colon pueden ser fermentados por las bacterias colónicas y ejercer diversos efectos fisiológicos que dependen de la interacción con dichos microorganismos.

El avance de estudios sobre propiedades y nuevas fuentes de fibra, se ha visto favorecido por el desarrollo de nuevas metodologías analíticas que permiten la identificación de nuevos compuestos indigeribles, como los prebióticos.

FIBRA Y PREBIÓTICOS: ESTRUCTURA Y MÉTODOS DE DETERMINACIÓN

Los prebióticos se definen como el ingrediente alimentario o parte de él (no digerible) que posee un efecto benéfico para el organismo receptor, estimulando el crecimiento selectivo y/o actividad de una o de un número limitado de bacterias en el colon y que confiere beneficios para su salud (5).

Es por ello el interés de formular productos de consumo amplio con agregado de fibra dietética. Dentro de este grupo, los oligosacáridos no digeribles constituyen componentes funcionales con efectos prebióticos. Entre ellos podemos destacar:

Fructanos: son polímeros de la fructosa que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza en plantas, algas, bacterias y hongos. Sin embargo, su conocimiento ha sido escaso debido a la dificultad de su determinación analítica. En los vegetales se almacenan como CHO de reserva en distintos órganos como hojas, raíces, tubérculos, rizomas y frutos. A los fructanos se les adjudican otras funciones fisiológicas, además de las de reserva, frente al predominio del almidón, que cumple ese objetivo en un mayor número de especies. Se ha sugerido que contribuyen a la estabilidad de proteínas y membranas durante el proceso de desecación, reemplazando la capa de hidratación. Esta función puede estar relacionada con la flexibilidad estructural que poseen los fructanos, que los hace únicos entre todos los polisacáridos.

Inulina y fructo-oligosacáridos (FOS): son los fructanos más estudiados desde el punto de vista nutricional y tecnológico. Ambos se diferencian por el grado de polimerización de las mezclas de polímeros que contienen, que es entre 2 y 60 para la inulina y entre 2 y 10 para los FOS. Están formados por una molécula de sacarosa a la que se unen sucesivas moléculas de fructosa por enlaces β 2→1 o β 2→6, resistentes a la hidrólisis de enzimas del tracto digestivo humano, llegando intactos al colon. De este modo, los fructanos son considerados parte de la

fibra dietaria (FD) (6). Industrialmente, la inulina se extrae en agua caliente de la raíz de la achicoria (*Cichorium intybus*) y los FOS se obtienen por hidrólisis de la inulina mediante una endo-inulinasa o por síntesis a partir de sacarosa, por medio de la fructosil-transferasa de origen fúngico. (6).

El análisis de los fructanos ha cobrado gran interés debido a la importancia que han adquirido estos compuestos desde el punto de vista de la salud y, como consecuencia, en la industria de alimentos para cumplir las exigencias legales de rotulación nutricional, en el que se incluye la declaración del valor energético, proteínas, grasas, CHO y FD, de la que los fructanos forman parte de la fracción soluble. Por otra parte, es importante el análisis de vegetales para la búsqueda de nuevas fuentes de fructanos. Existe muy poca información sobre su contenido en las plantas, ya que su identificación, su separación y su cuantificación tradicionalmente han sido incompletas y tediosas. La variedad de estructuras, fuentes y factores que pueden afectar dicha conformación, dificulta en gran medida el hallazgo de un método adecuado. En general, se acepta que el mejor camino es la hidrólisis de los polímeros y la subsiguiente medición de los compuestos generados, de modo que los resultados estarán influidos por la eficacia de la metodología e instrumental con la que se separan y miden (6).

La aparición de nuevas fuentes de fibra, que no son determinadas por el método oficial, ya que por su bajo PM son solubles en alcohol, como los oligosacáridos no digeribles, ha llevado al desarrollo de nuevos métodos, como el de McCleary y otros (2000) que desarrollaron un método enzimático-colorimétrico que ya cuentan con su aceptación por parte de la AOAC (Método AOAC 999.03) y que se han incorporado en el Codex Alimentarius (7).

EFFECTO SOBRE LA FUNCIÓN INTESTINAL

La microbiota del intestino humano contiene de 10^{10} a 10^{11} microorganismos/g de heces, en su mayoría anaerobias y sacarolíticas, y su composición depende de las características individuales del intestino y de la dieta consumida.

Los prebióticos actúan como sustrato de fermentación de estas bacterias probióticas modulando la composición de la microbiota intestinal estimulando, en el intestino grueso, el crecimiento y actividad de bacterias lácticas como las bifidobacterias y lactobacilos, que inhiben otras especies con potencialidad patogénica como *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* (8).

Como productos finales de la fermentación se forman gases y ácidos orgánicos. Estos corresponden a ácidos grasos de cadena corta (AGCC), tales como lactato, acetato, propionato y butirato (9). La producción de AGCC a nivel del colon disminuye el pH intestinal incrementando la solubilidad de minerales como calcio (Ca), hierro (Fe) y zinc (Zn), lo cual favorece su absorción (9).

Estos cambios se asocian a un aumento del peso del ciego, produciendo hipertrofia de la pared cecal. A través de estos cambios se podría monitorear la modificación de las poblaciones microbianas (10).

Todos los estudios coinciden en señalar una disminución significativa ($p < 0,05$) en el pH del contenido del ciego como consecuencia de la administración de prebióticos a la dieta. Ohta y col (11), observaron que la administración de un 5% de GOS (galactooligosacáridos), rafinosa o FOS a la dieta de ratas disminuyó significativamente ($p < 0,05$) los valores del pH del contenido del ciego (5,62, 5,54 y 5,24, respectivamente) frente al grupo control (6,88). Estos cambios no solo dependen del tipo y concentración de prebióticos administrada, sino también de la concentración de Ca en la dieta.

Chonan y Watanuki (12) encontraron que el pH del contenido del ciego en las ratas fue de 5,6 cuando se les administró un 5% de TOS (transgalactooligosacáridos) y que el pH fue de 5,3 con un 10% de TOS. Respecto al contenido en Ca, estos mismos autores describieron que el consumo de un 5% de GOS en una dieta con bajo contenido de Ca (215 mg Ca/100 g) dio lugar a un menor pH del contenido del ciego (5,80) en comparación al pH alcanzado (6,04) por el grupo alimentado con una dieta con contenido normal en Ca (2.150 mg Ca/100g).

Rémésy y col. (13), en ratas alimentadas con una dieta con 300 mg/100 g y otra con 800 mg/100 g de Ca enriquecidas con inulina al 15%, también encontraron que el pH del grupo alimentado con la dieta con menor cantidad de Ca fue significativamente ($p<0,05$) inferior (5,30) al otro grupo (5,9).

Lopez y col (14) no observaron diferencias significativas en el peso de la pared del ciego utilizando como fuente de hidratos de carbono el almidón resistente y no resistente.

Campbell y col. (15) empleando otros oligosacáridos no digeribles, tampoco encontraron diferencias significativas con el peso de la pared del colon respecto al grupo control en las ratas alimentadas con dietas con un 6% de celulosa, FOS u oligofructosa.

Como conclusión del efecto de los prebióticos sobre los parámetros medidos en el ciego de las ratas se observó un valor de pH del contenido del ciego significativamente inferior ($p<0,05$) al del grupo control, y el peso del ciego significativamente ($p<0,05$) mayor a la del grupo control.

Otros investigadores también han demostrado un mayor peso cecal y grosor de la pared cecal peso causados por FOS en comparación con una dieta con ninguna fibra (16).

La modulación en la actividad del colon juega un rol esencial no sólo para el mantenimiento de la salud, sino para reducir el riesgo de enfermedades. También se considera que los prebióticos modularían la función de la barrera intestinal y participarían en fenómenos de inmunidad (17).

PREBIÓTICOS Y CALCIO

El calcio es parte estructural de huesos, dientes y tejidos blandos, encontrándose implicado en muchos de los procesos metabólicos. El esqueleto adulto contiene entre 1000-1200 g y se requiere aproximadamente 1 g/ día para mantener esos niveles en el organismo adulto.

El Ca se mueve a través del intestino de dos maneras diferentes: transcelular (transporte activo y pasivo) y paracelular (18) y de acuerdo a distintas experiencias ambas rutas se verían favorecidas por el consumo de prebióticos. Se postula que la fermentación de prebióticos produciría un incremento del transporte activo de Ca por diversos mecanismos que involucran, tanto un acoplamiento directo entre el transporte de Ca y la entrada de AGCC al colon, como la activación de la expresión génica de diversas proteínas involucradas en la unión y secuestro mucosal de Ca (19) lo que aumenta la biodisponibilidad del mismo, que se define como *"la porción del nutriente de una comida o dieta que es absorbida y utilizada para cumplir las funciones que le son propias"*, y es un aspecto fundamental en un estudio nutricional.

Las pérdidas obligatorias en adultos sedentarios con dietas mixtas oscilan entre 160-240 mg/d y el calcio total del organismo, resulta del balance entre la ingesta y la excreción tanto intestinal como urinaria (20, 21, 22).

La masa ósea depende de factores que no pueden ser modificados como la edad, sexo, altura, genética y raza, y factores que si pueden serlo como estado hormonal y estilo de vida que incluye el hábito de fumar, consumo de alcohol y dieta.

La deposición ósea de calcio ocurre desde la infancia hasta alcanzar el pico de masa ósea que varía entre los 20-35 años de edad. Desde los 20-40 años la masa ósea se mantiene estable en ambos sexos y

posteriormente comienza a declinar, especialmente en las mujeres, en las cuales al disminuir la producción de estrógenos durante la menopausia, se encuentra estimulada la resorción ósea.

La deficiencia crónica de calcio es la resultante de una ingesta disminuida o una pobre absorción, lo cual puede conducir a una disminución de la masa ósea y osteoporosis, la cual se define como pérdida de la masa y arquitectura del hueso que puede conducir a fragilidad ósea y fracturas. La osteoporosis ha sido definida por OMS (Organización Mundial de la Salud) como la 2ª causa de problemas de salud después de las enfermedades cardiovasculares (23, 24, 25).

El desarrollo del máximo pico de masa ósea durante el crecimiento y la reducción de la resorción ósea durante la tercera edad, son las dos principales estrategias para prevenir la osteoporosis, ya que existen evidencias experimentales que muestran una asociación positiva entre ingesta de calcio y densidad de la masa ósea en todas las etapas de la vida.

En las mujeres desde los 50-65 años se triplica el remodelamiento esquelético, causa que contribuye a la fragilidad ósea. La nutrición es un factor importante en el desarrollo y mantenimiento de la masa ósea (26, 27) ya que una ingesta alta de calcio durante la postmenopausia y vejez, reduciría el remodelamiento a valores premenopáusicos y mejoraría la fuerza ósea antes de que haya cambios en la masa del hueso (28).

La ingesta recomendada actualmente propuesta para el adulto, varía entre los 1000-1300 mg/día, y se basa en estudios de balance que estiman cual sería la retención que habría que estimar para llegar a la máxima reserva ósea (29).

El hombre primitivo obtenía una ingesta de 2.000-4.000 mg/d de fuentes vegetales y el organismo había desarrollado estrategias para protegerse de una ingesta excesiva de calcio (30). Actualmente con la dieta occidental, hay un 30% de la población que ingiere una dieta deficiente en este mineral, además, con la edad la absorción se vuelve menos eficiente, y aún si la ingesta es adecuada puede existir una absorción disminuida o una excreción aumentada (31).

La corrección de la deficiencia de calcio en la dieta de diversas poblaciones ha sido llevada a cabo mediante las siguientes estrategias: cambios en la conducta alimentaria de la población incrementando el consumo de alimentos ricos en calcio, fortificación de alimentos o ingesta de suplementos. Estas estrategias no siempre son sencillas de llevar a cabo, por lo cual la absorción de calcio puede llegar a ser un factor crítico para disponer del calcio biodisponible para el crecimiento y mantenimiento óseo. De todo esto se infiere que el principal objetivo nutricional para prevenir la osteoporosis es disponer de suficiente calcio biodisponible para optimizar el potencial genético y por ello es que existe la necesidad de identificar componentes o ingredientes funcionales de los alimentos que puedan incrementar su absorción.

La absorción del Ca se produce en un 90% en el duodeno, yeyuno e íleon, mientras que el 10% restante se lleva a cabo en el colon (32). Este proceso colónico se lleva a cabo a través del intestino de dos maneras diferentes: transcelular (transporte activo y pasivo) y paracelular, y de acuerdo a lo que relata la bibliografía, ambas rutas se verían favorecidas por el consumo de prebióticos.

Tanto en modelos animales como en estudios en humanos, se han encontrado evidencias de los efectos de los prebióticos sobre el aumento de la absorción y retención de calcio (10).

El efecto de los prebióticos sobre la absorción de minerales ha sido muy estudiado (33) tal como se señaló anteriormente; la disminución del pH del colon por la fermentación y la producción de ácidos grasos de cadena corta junto con el aumento en la concentración de la proteína calbindina en el colon se han propuesto como hipótesis para explicar este efecto (34).

Esta disminución del pH intestinal, produce un cambio en la forma iónica del Ca y aumenta su solubilidad. Este proceso también incrementa la absorción pasiva paracelular, proponiéndose que este tipo de

absorción estaría aumentado debido a la estimulación de la apertura de las uniones estrechas de la mucosa, proceso que ocurre a través de la condensación de los microfilamentos de actina, vía una miosina quinasa de cadenas livianas. Por otro lado, también estaría aumentado el intercambio de los protones intracelulares (H^+) por los cationes de Ca^{2+} lumenales o extracelulares, con un efecto neto de aumento de la absorción pasiva.

El butirato producido por la fermentación prebiótica aumentaría el transporte activo debido a la estimulación de la síntesis de Calbindina –D 28k y del receptor de la 25-OH vitamina D mediado por el butirato. (35)

Además de aumentar la biodisponibilidad de calcio, se ha demostrado en ratas que la alimentación con FOS incrementa la concentración de calcio en el hueso y mejora la estructura ósea (35). También se ha demostrado en ratas en crecimiento que la inulina eleva el contenido mineral y la densidad ósea (36).

Los estudios realizados dan una evidencia promisorio de que los FOS aumentarían la absorción de no solo de calcio, sino también de magnesio y hierro en humanos (37).

Weisstaub et al estudiaron la correlación entre fermentación y absorción de calcio en dietas adicionadas con diferentes fuentes de fibra en varios tipos de modelos en animales. Uno de los modelos se diseñó con ratas adultas ovariectomizadas para simular la menopausia y evaluar la recuperación ósea y otro se realizó en ratas en período de crecimiento. En el modelo menopáusico se estudiaron ratas alimentadas con dieta control, durante 60 días, con dietas conteniendo fructanos (FOS) y otro con polidextrosa, mientras que en el modelo de crecimiento se compararon animales control con grupos alimentados con dietas conteniendo fructanos, polidextrosa y pan adicionado con fructanos (FOS). La concentración de fibra en las dietas experimentales fue del 10%, salvo en el caso de la polidextrosa en el cual la concentración fue del 5% para evitar la aparición de heces diarreicas. Durante los últimos cinco días de la experiencia se recogieron las heces y se estimaron los consumos para calcular la absorción aparente de calcio, mientras que a tiempo final se removió el ciego, registrándose el peso y pH del contenido cecal. También se estimó la retención de calcio por métodos densitométricos. En ambos modelos, los resultados obtenidos mostraron que en las ratas alimentadas con dietas conteniendo FOS al 10% o polidextrosa al 5% se observó un incremento del peso del ciego de un 25–32%, en comparación con ratas alimentadas con la dieta de control, acompañado por disminución del pH cecal. Estos datos obtenidos evidencian una clara relación entre los prebióticos contenidos en una dieta, la fermentación colónica y la absorción de calcio, y que el método utilizado para su evaluación, constituye una herramienta útil para el estudio de estos ingredientes funcionales, de modo de poder caracterizarlos a fin de incorporarlos en alimentos en el marco de una alimentación más saludable (38)

Los trabajos analizados en esta revisión, confirman la importancia de la ingesta de este tipo de fibras prebióticas, que al ser incorporadas en la dieta, provocan cambios beneficiosos tanto en la composición como en la actividad de la microbiota, que se traducen en un aumento de la absorción de calcio. Este incremento en la biodisponibilidad de calcio ha demostrado su efectividad en la prevención de la osteoporosis.

En nuestro país la variedad de estos productos está basada principalmente en los diferentes tipos de ingredientes que integran las mezclas, pero estos productos a menudo carecen de estudios que sustenten su funcionalidad, que va más allá de la mera cuantificación de sus componentes. Se necesita conocer en profundidad los cambios que se producen, a fin de poder seleccionar la opción más saludable.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS.Organización Mundial de la Salud. 2004. Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health.Doc. WHA57.17
2. Mann J et al. (2007). FAO/WHO scientific update on carbohydrates in human nutrition: conclusions. *European Journal of Clinical Nutrition* 61 Suppl 1:S132-7.
3. Ashwell M. 2005. Conceptos sobre Alimentos Funcionales. ILSI Europe Concise Monograph Series, ILSI Press.
4. Lutz, M y Zuleta, A (2009). Relación entre la alimentación y la salud del consumidor. En: Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación. Universidad de Valparaíso Editorial, Chile, pag 17 - 26. ISBN 978-956-214-094-2.
- 5 Functional Foods for Health at the University of Illinois. Disponible en <http://www.ag.uiuc.edu/~ffh>
6. Lutz, M y Zuleta, A (2009). Relación entre la alimentación y la salud del consumidor. En: Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación. Universidad de Valparaíso Editorial, Chile, pp. 17 - 26.
7. - Codex Alimentarius FAO-OMS (2009) Documento CL 2009/3-NFSDU
8. Gibson, Hollie M. Probert, Jan Van Loo. Rastall and Marcel B. Roberfroid (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota. *Nutrition Research Reviews*, 17, 259–75.
9. Coudray C, Bellanger J, Castiglia-Delavaud C, Rémésy C, Vermorel M, Rayssiguier Y (1997). Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *Eur J Clin Nutr.* 51(6):375-80.
10. Roberfroid M, Gibson GR, Hoyle L, McCartney AL, Rastall R, Rowland I, Wolvers D, Watzl B, Szajewska H, Stahl B, Guarner F, Respondek F, Whelan K, Coxam V, Davicco MJ, Léotoing L, Wittrant, Delzenne NM, Cani PD, Neyrinck AM, Un Meheust. (2010) Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *Br J Nutr.* 104 Suppl 2: S1-S63.
11. Ohta A, Ohtsuki M, Hosno A, Atachi T, Hara T, Sakala T (1998.) Dietary fructooligosaccharides prevent osteopenia after gastrectomy in rats. *J Nutr.* 128, 106-
12. Chonan O and Watanuki M (1995). Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* ; 41: 95-104.
13. Rémésy C, Levrat MA, Gamet L, Demigné C (1993). Cecal fermentations in rats fed oligosaccharides (inulin) are modulated by dietary calcium level. *Am J Physiol.* 264 (5 Pt 1):G855-62.
14. López H, Coudray C, Bellanger J, Younes, H, Demigné C, and Rémésy C (1998) Intestinal Fermentation Lessens the Inhibitory Effects of Phytic Acid on Mineral Utilization in Rats *J. Nutr.* 128:1192-8
15. Campbell Bauer Fahey, HogarthWolf and Hunter.(1997) Selected Fructooligosaccharide (1-Kestose, Nystose, and 1F-β-Fructofuranosylnystose) Composition of Foods and Feeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 3076-82
16. Goñi A, Díaz-Rubio B, Pérez-Jiménez A, Gudiel, M. and Saura-Calixto (2005). Arichokes modifies bacterial enzymatic activities and antioxidant status in ratcecum. *Nutrition Research*, 25: 607-15
17. Schley PD and Field C J (2002). The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. *Br J Nutr*; 87 Suppl: S221-30.
18. Bronner F (1987). Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. *J Nutr* ;117: 1347–52.
19. Chonan O and Watanuki M (1996) The effect of 6'- galactooligosaccharides on bone mineralization of rats adapted to different levels of dietary calcium. *Int J Vitam Nutr Res.* ;66 : 244-9.
20. Scholz-Ahrens KE, Schaafsma G, van den Heuvel EG, Schrezenmeir (2001). Effects of prebiotics on mineral metabolism. *J. Am J Clin Nutr.* 73: 459S-64S.
21. Scholz-Ahrens KE, Ade P, Marten B, Weber P, Timm W, Açil Y, Glüer CC, Schrezenmeir J (2007). Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *J Nutr.* 137 : 838S-46S.
22. Portela ML (1993). Calcio y fósforo. En: Vitaminas y Minerales en Nutrición. Ed. López, Buenos Aires,
23. Arnaud CD and Sánchez SD (1997). Calcium and phosphorus. En: Present Knowledge in Nutrition, 7a ed., p. 260-271. Ziegler EE and Filer LJ Ed. Nutrition Foundation, Washington, D.C.
24. Heaney R (1999). Aging and calcium balance. In: The aging skeleton. Rosen C, Glowacki J, Bilezikian JP, editors. San Diego: Academic Press: 19–26.
25. Weaver, C.M (1990). Assessing calcium status and metabolism. *J. Nutr.*120:1470-73.
26. Nordin BEC (1997). Calcium and osteoporosis. Dietary calcium in health. *Bulletin of the International Dairy Federation* 322: 4-10.
27. Consensus Development Conference (1993) Diagnosis prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med*; 94:646–50.

28. Consensus development statement (1997). Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporosis Int.* ;7: 1–6.
29. Report from the European Community (1999) Building strong bones and preventing fractures. Summary report on osteoporosis in the European Community-action for prevention. EUR OP Eds, Luxembourg
30. Eaton SB, Nelson DA. (1991) Calcium in evolutionary perspective. *Am J Clin Nutr.* 54: 281S–7S.
31. Heaney RP, Weaver C. Newer perspectives on calcium nutrition and bone quality. *J Am Coll Nutr.* (2005) ;24 :574S–81S.
32. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Mayne ST, Rosen CJ, Shapses SA (2011). The 2011 Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D: what dietetics practitioners need to know. *J Am Diet Assoc.* ;111(4):524-7.
33. Cashman K (2003). Prebiotics and calcium bioavailability. *Curr Issues Intest Microbiol* 4:21-32.
34. Bronner F (2009). Recent developments in intestinal calcium absorption. *Nutr. Rev.* 67: 109-13.
35. Coudray C, Tressol JC, Gueux E, Rayssiguier Y (2003). Effects of inulin-type fructans of different chain length and type of branching on intestinal absorption and balance of calcium and magnesium in rats. *Eur J Nutr.*; 42: 91–8.
36. Scholz-Ahrens KE, Schrezenmeir J. (2002). Inulin, oligofructose and mineral metabolism—experimental data and mechanism. *Br J Nutr.* ;87: 179S–86S.
37. Roberfroid MB (2002.) Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British J of Nutr* 87, S 139-43.
38. Weisstaub, A. Abdala, V. Gonzales Chaves, M. Mandalunis, P. Zuleta, A. and Zeni, S. Polydextrose enhances calcium absorption and bone retention in ovariectomized rats *International Journal of Food Science*, vol. 2013, Article ID 450794, 8 pages, 2013. doi:10.1155/2013/450794

NUTRICIÓN PARENTERAL: IMPORTANCIA DE LA CONTAMINACIÓN CON MICROMINERALES ESENCIALES

Ana María Menéndez (1,3), María Luz Pita Martín de Portela (2, 3) *

(1). Carrera de Farmacia, Cátedra de Farmacia Hospitalaria y Clínica. Universidad de Belgrano, Buenos Aires. Villanueva 1324, CA de Buenos Aires. Argentina.

(2) Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 2º p, CA de Buenos Aires. Argentina.

(3) Instituto Argentino de Educación e Investigación en Nutrición (IADEIN), CA de Buenos Aires, Argentina.

* Dirigir la correspondencia a: María Luz Pita Martín de Portela. Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Junín 956 2º (1113) CA Buenos Aires. mportela@ffyb.uba.ar

CONTENIDOS

RESUMEN	45
SUMMARY.....	46
INTRODUCCIÓN	46
MICROMINERALES ESENCIALES: RECOMENDACIONES SOBRE LAS DOSIS EN LA NP	47
CONTAMINACIÓN CON MICROMINERALES ESENCIALES: ZINC Y COBRE	49
CONTENIDO DE ZINC Y COBRE EN FÓRMULAS ESTÁNDAR	52
FÓRMULAS DE NEONATOLOGÍA	53
FÓRMULAS DE PEDIATRÍA	53
FÓRMULAS DE ADULTOS	53
CONCLUSIONES	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

RESUMEN

Las mezclas nutrición de parenteral son una terapéutica esencial para el cuidado y tratamiento de los pacientes, ya que representan una de las más complejas fórmulas farmacéuticas preparadas, según prescripción médica, por los farmacéuticos en el hospital o en centros de mezclas privados. Su administración endovenosa, requiere cuidados especiales con respecto a las dosis de sus componentes, la esterilidad, compatibilidad y estabilidad de la mezcla final.

Se ha demostrado que algunos de los componentes individuales utilizados para preparar nutrición parenteral contienen, como contaminantes, microminerales esenciales zinc, cobre, cromo, selenio, manganeso y molibdeno, que provienen de contaminación no prevista, difícil de evitar y controlar por parte de la industria durante el proceso de fabricación de los componentes. Las cantidades presentes varían según el tipo de fabricante, componente analizado, lote, fecha de vencimiento, etc. Esa contaminación contribuye a que las cantidades reales de las mezclas sean superiores a las prescritas por el médico, pudiendo comprometer la evolución del paciente crítico. Estudios realizados en Argentina han evidenciado contaminación con Zn y Cu en diversos componentes, con valores variables, según el fabricante y el lote de cada producto. La dextrosa y los lípidos presentaron las mayores cantidades de zinc y cobre. Asimismo, las mezclas de nutrición parenteral de prescripción habitual alcanzan concentraciones de zinc y cobre superiores a las prescripciones, que no traerían inconvenientes en pacientes adultos clínicamente estables, pero serían perjudiciales en aquellos con enfermedades inflamatorias, insuficiencia renal, alteración hepática, colestasis, neonatos y niños. En Argentina, los componentes individuales utilizados para elaborar Nutrición Parenteral no declaran en las

etiquetas los oligoelementos contaminantes. Sería aconsejable solicitar su declaración en el rótulo para evitar tanto las deficiencias como los excesos, que pueden comprometer la evolución del paciente grave, fundamentalmente, en Neonatología y Pediatría.

Abreviaturas: NP: Nutrición Parenteral

ZINC AND COPPER CONTENT IN INDIVIDUAL COMPONENTS USED TO PREPARE PARENTERAL NUTRITION MIXTURES

SUMMARY

Parenteral nutrition is an essential therapeutic of patient care and treatment, which represents one of the most complex pharmaceutical formulations daily prepared at the hospital or private Health Centres. Their intravenous delivery to the central circulation requires continuous scrutiny, particularly with regard to the components' doses, sterility, compatibility and stability of the final admixture. It has been found that individual commercial solutions used to prepare parenteral nutrition formulas could be contaminated with essential micro minerals such as zinc, copper, chromium, selenium, manganese and molybdenum, not intended to be present in the products. Concentrations vary significantly between types of components, manufacturers and between lots of the same manufacturer. Potential sources of contamination could be packaging, manufacturing methods and impurities in the chemicals constituents used to produce the component solutions. Zn and Cu were found as contaminants, in individual component solutions available in Argentina used to prepare nutrition parenteral mixtures. They were present at variable levels and were not declared on the label. Dextrose and lipid solutions presented the highest amount of zinc and copper. Therefore, the total parenteral mixtures prepared with the analyzed solutions must have had an excess of zinc and copper in relation to that prescribed by the physician. Conclusions: the usually prescribed total parenteral nutrition mixtures must have had a zinc and copper amount higher than the prescribed one according to international recommendations. The actual dose administered would be safe in patients without complications, but it would be harmful in renal failure, hepatic compromise or cholestasis mainly in pediatric patients. It would be advisable to declare the true content of zinc and copper on the label, with the aim to avoid deficiencies and excesses which would compromise the evolution of critical patients.

INTRODUCCIÓN

La nutrición parenteral (NP) es una terapéutica de efectividad bien documentada para el cuidado y tratamiento de los pacientes graves, que ha sido considerada uno de los principales avances de la medicina del siglo pasado, posibilitando la sobrevivencia de muchos pacientes críticos.

Las mezclas de NP son una de las más complejas formulaciones farmacéuticas preparadas, según prescripción médica, por los farmacéuticos en el hospital o en centros de mezclas privados. Su administración endovenosa, requiere cuidados especiales del equipo de profesionales de la Salud con respecto a la administración, las dosis de sus componentes, la esterilidad, compatibilidad y estabilidad de la mezcla final [1].

Los individuos hospitalizados y ambulatorios en los cuales la ingesta oral es imposible o desaconsejable, peligrando el mantenimiento de su vida, deben recibir “Terapia o Soporte Nutricional”, que propone tres alternativas terapéuticas indicadas por los médicos dentro del ámbito hospitalario público o privado: Nutrición Enteral (NE), Nutrición Parenteral (NP) o Nutrición Mixta: enteral y parenteral [2,3]. En esas alternativas terapéuticas, no solamente es importante aportar las calorías necesarias, cubrir el requerimiento de macronutrientes orgánicos (proteínas, hidratos de carbono y grasas) e inorgánicos (sodio, potasio, calcio, magnesio, cloruro, fósforo), sino que es indispensable cubrir las necesidades de los micronutrientes esenciales: vitaminas (hidrosolubles y liposolubles) y microminerales (zinc, cobre, manganeso, cromo, selenio, molibdeno, etc), imprescindibles para el mantenimiento de la vida. Si alguno de ellos no fuera aportado correctamente en la nutrición endovenosa podría ser causa de serias consecuencias para la recuperación de los pacientes y deficiencias muy graves, incluso la muerte.

Los componentes individuales utilizados en la elaboración de mezclas para Nutrición Parenteral, en Argentina, no contienen oligoelementos declarados en las etiquetas, salvo aquellos que los aportan específicamente. Sin embargo, se ha demostrado que algunos de estos componentes contienen, como contaminantes, microminerales esenciales que aportan cantidades extras de zinc, cobre, cromo, selenio, manganeso y molibdeno. El grado de contaminación y toxicidad potencial dependen de la naturaleza del mineral, su abundancia y disponibilidad en el medio, el estado molecular específico y las condiciones fisicoquímicas de la mezcla (pH, potencial redox, presencia de aniones y cationes, etc. [4]. Esos minerales provienen de contaminación no prevista, muy difícil de evitar y controlar por parte de la industria durante el proceso de fabricación de los componentes. Las cantidades presentes varían según el tipo de fabricante, envase, componente analizado, lote, fecha de vencimiento, etc. Esa contaminación puede presentarse con cierta frecuencia en los componentes individuales que provee la industria farmacéutica y podrían comprometer la evolución del paciente crítico [5, 6, 7].

Existen numerosas fuentes de contaminación de la industria farmacéutica entre las que se pueden citar:

- Impurezas metálicas (hierro, cromo) a partir del uso de reactores de acero
- Impurezas en mezclas vitamínicas: cobre
- Cromo, cobre, hierro, manganeso, zinc y otros microminerales: en diversos medicamentos y materiales farmacéuticos (aspirina, dipirona y paracetamol).
- Cromo: en polietileno y polipropileno usado en envases para preparaciones parenterales y oftálmicas.

En consecuencia, tanto los laboratorios fabricantes, como los profesionales farmacéuticos responsables de su producción y control de calidad, deberían controlar periódicamente el contenido de esos elementos contaminantes en los productos utilizados en la preparación de las mezclas de NP, ya que aún en el caso de los esenciales proporcionarían cantidades extra en relación a las prescriptas.

MICROMINERALES ESENCIALES: RECOMENDACIONES SOBRE LAS DOSIS EN LA NP

El reconocimiento de la esencialidad de algunos oligoelementos o micronutrientes minerales, ha sido posible gracias al avance de la Química Analítica Instrumental, que ha permitido su detección y cuantificación mediante métodos de sensibilidad adecuada. Por tal motivo, ha sido en la segunda mitad del siglo XX cuando se acumularon evidencias acerca de la esencialidad de diversos elementos minerales y la identificación de problemas nutricionales relacionados con sus deficiencias o excesos. Los oligoelementos o micro minerales

considerados esenciales en el humano, según el criterio de esencialidad propuesto en el año 1996 por un Comité consultivo formado por la Organización Mundial de la Salud, la Organización de Alimentos y Agricultura y la Agencia Internacional de Energía Atómica (WHO-FAO-IAEA), son: cobre, cromo, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, selenio, yodo y fluoruro [8]. Existe otra categoría constituida por minerales cuya esencialidad ha sido reconocida en fecha reciente o es discutida. Se denominan ultratrazas, por estar presentes en el organismo en cantidades del orden del miligramo (mg), microgramo (μg) o nanogramo (ng). Sus funciones son objeto de estudio actual y el avance en el conocimiento depende de la sensibilidad de los métodos de detección. Hasta la fecha se han incluido: boro, níquel, silicio, vanadio y arsénico [9].

Cada elemento esencial tiene al menos un rol importante que cumplir dentro del organismo y un rango dentro del cual se mantiene la homeostasis [10]. En relación a la administración de minerales esenciales por vía intra venosa existen cifras recomendadas por sociedades científicas internacionales, basadas en las cantidades requeridas para la prevención de los estados de deficiencia. Sin embargo, las cifras son variables y controvertidas, debido a que los criterios utilizados están en permanente revisión en relación al avance de los conocimientos sobre las funciones, mecanismo bioquímico de acción y efectos de la deficiencia y exceso [11, 12]

En función de esos conocimientos, desde 1979, se agregan zinc, cobre, cromo, manganeso, molibdeno y selenio en las fórmulas de Nutrición Parenteral (NP). El yodo y flúor, si bien son esenciales, no suelen incluirse dentro de las recomendaciones de las sociedades científicas, aunque se agregan en algunos productos multitraza para la preparación de la NP [13]. El hierro es un micromineral esencial pero se aconseja no agregarlo a las fórmulas, debido a su incompatibilidad [14].

Los documentos más recientes acerca de las recomendaciones para esos nutrientes fueron publicados por ASPEN 2004 [15] y se resumen en la Tabla I.

TABLA I
Recomendaciones para la suplementación diaria con elementos traza
de las formulaciones parenterales [15].

Elementos/dosis	Neonatos		Niños	Adolescentes	Adultos*
	Pretérmino Hasta 3 kg	A término 3–10 kg	>10 kg	>40 kg	
	(µg/kg/d)				
Cromo	0,05–0,2	0,2	0,14–0,2	5–15 µg/d	10–15 µg/d
Cobre	20	20	5–20	200–500 µg/d	0,3–0,5 mg/d
Manganeso†	1	1	1	40–100 µg	60–100 µg/d
Selenio	1,5–2	2	1–2	40–60 µg	20–60 µg/d
Zinc	400	50–250	50–125	2–5 mg	2,5–5 mg/d
Molibdeno	1	0.25	0,25	Hasta 50µg/d	50 µg/d
Ioduro	1µg/d	1µg/d	1µg/d	No hay acuerdo	
Hierro	No se agrega rutinariamente				
Fluoruro	No hay recomendaciones				

*Rangos estándar basados en las pérdidas normales de individuos sanos.

El nivel de contaminación en los componentes de las fórmulas de PN pueden contribuir significativamente a la administración total. Las concentraciones en suero deben ser controladas cuando se administran por tiempo prolongado.

La recomendación de elementos traza no puede ser alcanzada con un único producto de soluciones pediátricas de múltiples elementos traza. Sólo con la utilización de productos individualizados de elementos traza se pueden alcanzar las cifras recomendadas.

Por otra parte, ASPEN ha publicado recomendaciones provisionales sobre cifras acerca de dosis máximas de zinc, cobre, cromo, manganeso, selenio y molibdeno, teniendo en cuenta trabajos en los que se ha comprobado su exceso.[16].

Los efectos adversos y recomendaciones de dosis máximas de suplementación diaria con algunos de los elementos traza en las formulaciones parenterales son:

Cromo: se aconseja no superar en neonatos y niños 5 µg/d, basándose en observaciones de dermatitis, úlceras en piel, carcinoma broncogénico, cuando se han administrado cantidades superiores. [17].

Manganeso: el exceso produce hipermanganesemia y neurotoxicidad, cuando las cantidades administradas superan 50 µg/d en neonatos y niños y 60 µg/d en adultos [18, 19, 20, 21, 22].

Selenio: es un oligoelemento muy discutido. En NP se aconseja no superar 100 µg/d [23, 24, 25], pero existen algunos trabajos publicados con cantidades entre 500 y 1600 µg/d en pacientes internados en terapia intensiva. [26].

Molibdeno: el exceso produce Hiperuricemia y deficiencia de cobre [27].

Zinc: el exceso produce hipocupremia, microcitosis, neutropenia, function immune alteración o supresión de la respuesta inmune y deterioro del estado nutricional con respecto al cobre y al hierro. Se aconseja no superar 5 mg/d, aunque pacientes con quemaduras severas pueden requerir hasta 12-17 mg/d para compensar las pérdidas. [28, 29, 30].

Cobre: el exceso produce náuseas, vómitos, diarrea, oliguria, daño renal, necrosis hepática, daño neurológico, muerte. También se ha evidenciado interacción con zinc, hierro y molibdeno, deterioro del estado nutricional con respecto al zinc y al hierro y disminución de la actividad fagocítica de los polimorfonucleares. Se debe tener especial cuidado en pacientes con nutrición parenteral que presenten colestasis o compromiso hepático [31, 32, 33]. Por lo tanto, se recomienda el seguimiento de los pacientes, determinando los niveles de hierro sérico y ceruloplasmina y en el caso de pacientes con quemaduras y colestasis ajustar las dosis según las necesidades. [30].

CONTAMINACIÓN CON MICROMINERALES ESENCIALES: ZINC Y COBRE

El zinc y el cobre son micronutrientes minerales esenciales que regulan numerosos procesos metabólicos y cuya deficiencia produce anormalidades fisiológicas y estructurales [12, 28,29].

En las mezclas de nutrición parenteral se ha demostrado en forma indiscutible la función del zinc en el crecimiento y desarrollo de los neonatos y niños. En prematuros o niños que reciben NP, el balance positivo de zinc es un requisito esencial para lograr la respuesta anabólica y completar la maduración. Por ello es imprescindible administrar zinc en las fórmulas en cantidad adecuada a los requerimientos de cada paciente [34].

La deficiencia de cobre fue detectada por primera vez en 1972 en un niño que recibía NP [35] y más tarde fue evidenciada por otros autores en 1978 [36]. Los signos más importantes de deficiencia de cobre son neutropenia y anemia microcítica hipocrómica, que no responde al tratamiento con hierro. Otras manifestaciones clínicas de la deficiencia severa son: desmineralización esquelética, despigmentación del cabello, palidez en la piel, aneurismas vasculares, anormalidades en el sistema nervioso central, retardo del crecimiento, hipotonía e hipotermia [37].

Las sociedades científicas internacionales indican cifras variables de estos oligoelementos, debido a que los requerimientos en pacientes críticos, con determinados estados patológicos son controvertidos. En relación al zinc y cobre en las Tabla II y III se comparan las recomendaciones de AMA (American Medical

Association), ASPEN (American Society for Parenteral and Enteral Nutrition) y ESPEN (European Society for Parenteral and Enteral Nutrition).

Tabla II

Comparación de las dosis de zinc y cobre para pacientes pediátricos con NP, recomendadas por diferentes Sociedades Científicas

SOCIEDADES CIENTÍFICAS	Zinc (µg/Kg/d)	Cobre (µg/Kg/d)
AMA, 1979 [34]	100-300	20
ASPEN, 2004 [15]	50-250	20
American Society for Clinical Nutrition, 1988 [38]	400 (pretérmino) 250 (término) 50: (Niños)	20
Dosis habituales en Argentina	300 – 500	20

En la Tabla III para pacientes adultos observamos que mientras para AMA la recomendación máxima de cobre es 1,5 µg/d para ASPEN es 0,5 µg/d, la tercera parte. En el caso del zinc el máximo para ESPEN es 6.5 mg/d y para AMA es 4 µg/d, 62 % menos.

Tabla III

Comparación de las dosis de zinc y cobre para pacientes adultos con NP, recomendadas por diferentes Sociedades Científicas

Sociedades Científicas	Zn (mg/d)	Cu (mg/d)
AMA, 1979 [34]	2,5 – 4,0	0,5 – 1,5
ESPEN, 2000, 2002 [39,40]	3,2 – 6,5	0,3 – 1,3
ASPEN, 2004 [15]	2,0 – 5,0	0,3 – 0,5
Prelack O, 2001 [41] En pacientes críticos, no superar	50 µg/Kg/d	Hasta 0,5 mg/d
Dosis habituales en los centros de Argentina	5,0 – 12	1,0- 1,5

Como se mencionó anteriormente las cifras son controvertidas, debido a que los criterios utilizados están en permanente revisión. Una de las discrepancias se debe a que diversos trabajos [7, 42, 43] han demostrado que los componentes que se utilizan para preparar las mezclas de NP suelen estar contaminados con elementos traza, como zinc y cobre, que no están declarados en los rótulos de los productos, resultando cantidades extra administradas en relación a las teóricas del protocolo de elaboración, según lo prescripto por el médico [45]. Por consiguiente, es de suma importancia conocer el contenido real de zinc y cobre en los componentes individuales y en las fórmulas de NP, con objeto de modificar los aportes en función de las necesidades. De este modo se podrían evitar tanto las deficiencias como los excesos, que pueden comprometer la evolución del paciente grave. Según Pluhartor y col. el exceso hallado (con respecto a la concentración del rótulo) podría deberse a una cantidad extra como práctica intencional de la industria, con objeto de evitar pérdidas durante la elaboración.

En Argentina se estudiaron 75 productos correspondientes a 20 componentes de diferentes lotes pertenecientes a productos provistos por Laboratorios nacionales e internacionales (Rivero, Fresenius, Baxter, BBraun, FADA y Roux Ocefa) cuyos resultados se observan en la Tabla IV.

Tabla IV
Cantidad de zinc y cobre hallado como contaminación de los componentes individuales para preparar NP
(promedio, desvío estándar y rangos)

Componente	N	Zinc (µg/mL)	Cobre (µg/mL)
Dextrosa 70%	5	0,86±1,05	1,07±2,09
Aminoácidos infantil 10%	3	0,08±0,11 (0- 0,24)	0,45±0,13 (0,27 - 0,56)
Aminoácidos adultos 10%-11,5 %	7	0,23±0,40 (0- 1.10)	0,12±0,21 (0 - 0,58)
Cloruro de potasio	2	0	0
Cloruro de sodio 20%	4	0,19±0,09 (0,09 –0,32)	0
Sulfato de magnesio 25%	6	0,02±0,02 (0 – 0,04)	0
Sulfato de manganeso	2	0,06±0,04 (0,03- 0,08)	0
Cloruro de cromo	2	0,04±0,03 (0,02-0,06)	0
Ácido selenioso	3	0,06 ±0,03 (0,02-0,11)	0
Molibdato de amonio	1	0.02	0
Vitaminas pediátricas	2	0	0
Vitaminas adultos	2	0,02±0.03 (0-0.05)	0,00±0,01 (0-0.71)
Agua estéril	3	0	0
Gluconato de calcio	9	0,21±0,62 (0 – 1,86)	0,20±0,32 (0 – 0,71)
Lípidos 20% MCT/LCT	5	1,54±1,01 (0,39 – 2,52)	0,68±0,48 (0,18 – 1,16)
Lípidos 20% LCT	4	1,23±0,91 (0,4 – 2,2)	0,69±0,63 (0,18 – 1,48)

En los productos de Argentina no presentaron cantidades detectables de zinc ni de cobre en el agua estéril, ni en las soluciones de cloruro de potasio y las vitaminas infantiles. Sin embargo, se encontraron cantidades apreciables de zinc en 13 de los componentes analizados y de cobre en 7 de ellos. Las soluciones de lípidos y de dextrosa, que se utilizan en mayores volúmenes, presentaron las más altas concentraciones, tanto de zinc como de cobre, con gran variabilidad según los lotes y fechas de vencimiento de los productos.

Estos resultados presentan algunas similitudes y diferencias con los publicados por Pluhator et al., quienes estudiaron sólo 7 componentes, encontrando contaminación con zinc y cobre en los aminoácidos y en el agua estéril (más de 1µg/L de zinc) [7].

Por otra parte, como puede observarse en la tabla V, las soluciones individuales de sulfato de zinc (n=6), en relación al rótulo presentaron cantidades diferentes a las declaradas [43]. Todas las soluciones de sulfato de cobre (n=6) presentaron menos de lo declarado. Además, 2 soluciones de sulfato de zinc presentaron contaminación con cobre y todas las soluciones de sulfato de cobre presentaron contaminación con zinc.

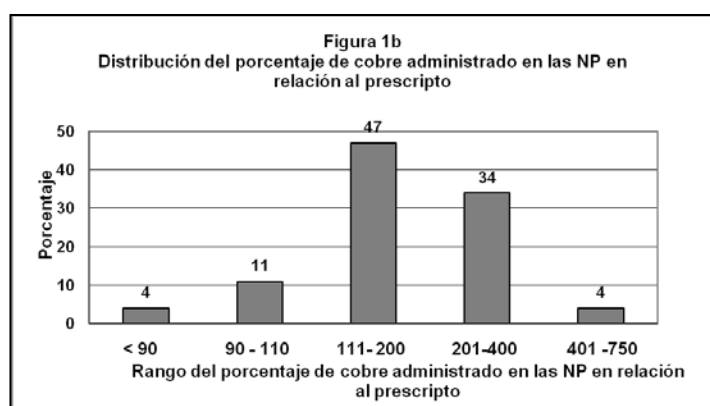
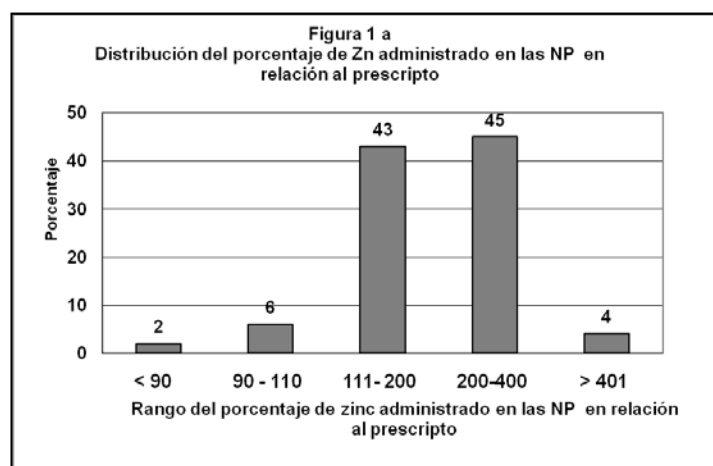
Tabla V

Cantidad declarada y contenido real de zinc y cobre en las soluciones de sulfato de zinc[®] y de sulfato de cobre[®] (promedio, desvío estándar y rangos)

Producto/Componente	ZINC (µg/ml)	COBRE (µg/ml)
Sulfato de zinc [®]	<i>Declarado en rótulo</i>	
	1000	0
	Encontrado	
	1122 ± 171 (904 – 1402)	0,07 ± 0.13 (0 – 0,30)
Sulfato de cobre [®]	<i>Declarado en rótulo</i>	
	0	400
	Encontrado	
	1,41 ± 0,66 (0,07 – 1,81)	360 ± 27 (329 – 396)

CONTENIDO DE ZINC Y COBRE EN FÓRMULAS ESTÁNDAR

Con los datos obtenidos, se calcularon las cantidades reales de zinc y de cobre que tendrían las mezclas usuales de NP destinadas a: un neonato de 1,2 kg de peso a un niño de 10 kg de peso y a un adulto de 60 Kg. En las figuras 1a y 1b se ha representado, considerando los resultados promedio encontrados, el porcentaje de exceso de zinc y de cobre, respectivamente, que aportarían dichas fórmulas en relación a la prescripción.



La práctica habitual en Argentina para fórmulas de NP en pediatría (neonatología y niños) es utilizar soluciones individuales de sulfato de cobre y de sulfato de zinc, que permiten manejar dosis mayores o menores según los requerimientos particulares de cada paciente.

FÓRMULAS DE NEONATOLOGÍA

El recién nacido presenta condiciones fisiológicas especiales que implican elevadas necesidades metabólicas tanto si es un nacido a término como si es de bajo peso o prematuro. Por ello, es sumamente importante cubrir los requerimientos específicos de cada uno de los macro y micronutrientes: aminoácidos, lípidos, glucosa, electrolitos (sodio, potasio, fosfato, cloruro, magnesio), acetato, calcio, zinc, cobre, manganeso, cromo, selenio y molibdeno y vitaminas [40, 45].

Se debe tener en cuenta que el 75% del contenido corporal de zinc y cobre, en el recién nacido a término, es transferido al feto a partir de la semana 30 de gestación. Por lo tanto, los nacidos pretérmino deben recibir de inmediato estos oligoelementos en cantidad adecuada para cubrir las necesidades y para replecionar los depósitos [9, 46,47].

El Comité de Expertos de la Asociación Médica Americana considera que debido a la falta de reservas de zinc en los niños prematuros se deben administrar 300 µg/kg/d y 100 µg/kg/d para niños nacidos a término [34]. Friel et al [27] observaron la vulnerabilidad a la deficiencia de zinc en niños de muy bajo peso al nacer que recibían una fórmula preparada con solo 40 µg/kg/d. Deficiencias moderadas de zinc se manifiestan con problemas de piel, pérdida de cabello, diarrea y retardo de crecimiento, asociado a una disminución del factor de crecimiento insulina similar IGF1 (*Insulin-like growth factor type 1*), antes de que puedan ser detectadas bioquímicamente [48].

El contenido real de zinc en una NPT preparada para un neonato de 1,2 kg de peso considerando el rango de los resultados encontrados, sería entre 3 y 61% mayor al prescripto. En el caso del cobre, el contenido real administrado podría llegar a más de 4 veces el prescripto (7% a 426%).

FÓRMULAS DE PEDIATRÍA

El contenido real de zinc en una NPT preparada para un niño de 10 kg de peso, considerando el rango de los resultados encontrados, sería entre 5 y 89% mayor al prescripto, cantidades de zinc que no serían excesivas en relación a las dosis que pueden producir toxicidad.

En el caso del cobre, dado el amplio rango del contenido de cobre encontrado en los componentes individuales, el contenido real administrado sería entre 7% y 365% superior al prescripto, cantidades que deberían ser tenidas en cuenta en casos de NPT prolongada.

FÓRMULAS DE ADULTOS

El exceso promedio teórico del contenido real de zinc y cobre, en relación al prescripto, en una NP preparada para un adulto de 60 kg de peso, considerando los resultados promedio encontrados, sería de 31-32% de exceso para el zinc y de 65-68% para el cobre según se utilicen soluciones individuales de sulfato de zinc y sulfato de cobre o soluciones de elementos multitraza. Teniendo en cuenta los rangos encontrados, la dosis de zinc administrada podría ser casi el doble de la prescripta mientras que en el caso del cobre la cantidad administrada podría alcanzar a casi 4 veces la prescripta.

Estos resultados teóricos se corroboraron en otro estudio realizado en Argentina [44, 49], en el que se determinaron los niveles de zinc y de cobre en las 132 mezclas administradas a adultos y elaboradas en un Centro de Mezclas, con objeto de realizar el seguimiento clínico y bioquímico de pacientes adultos críticos y ajustar las dosis en función de los requerimientos, para evitar las deficiencias y los excesos. En las figuras 1a y 1b se ha representado la distribución de las fórmulas de NP según el porcentaje real de zinc

y de cobre en relación a la cantidad prescrita por el médico. [43, 44].

Como puede observarse en la figura 1a sólo el 6% de las NP se ajustaron a la prescripción de zinc, 2% contenían menor cantidad (< del 90%) y el 92% restante de las NPT alcanzaron valores hasta 5 veces superiores a la cantidad prescrita (entre 111 y 513 %).

En la figura 1b se ha representado la distribución de las NP según el porcentaje de cobre administrado en relación a la cantidad prescrita por el médico. El 11% de las NP se ajustó a la prescripción de cobre; 4% contenían una cantidad inferior y el 85% restante de las NPT alcanzaron valores hasta 7,5 veces superiores a la cantidad prescrita (entre 111 y 750%).

Se debe tener en cuenta que la concentración final de zinc y cobre en las mezclas de NP representa la suma de la cantidad prescrita por el médico más la proveniente de la contaminación de cada uno de los componentes provistos por la Industria Farmacéutica para la preparación de la NP.

Las mezclas de NP preparadas en Argentina, contienen habitualmente un exceso de zinc y cobre en relación a lo prescripto [43]. Las cantidades encontradas de zinc no serían excesivas, en relación a las dosis que pueden producir toxicidad, tanto en la fórmula para neonatos como para niños sin embargo, deberían ser tenidas en cuenta en casos de NP prolongada. El exceso de cobre debe ser considerado fundamentalmente en pacientes que presenten colestasis o compromiso hepático [31, 32, 33]. Esos niveles serían elevados en el caso específico de algunos pacientes críticos y deben ser evitados en pacientes con alteraciones hepáticas. En esos casos el médico suele suprimir en la prescripción la incorporación de cobre, lo cual ha dado lugar a casos publicados de deficiencia severa con anemia, neutropenia y trombocitopenia, incluso con enfermedad cardíaca progresiva con hipertensión portal y muerte del paciente luego de 19 días de NP sin este micronutriente (37, 38). Por este motivo se recomienda disminuir la dosis de cobre, pero no suprimirla, excepto en casos de insuficiencia hepática.

CONCLUSIONES

Los componentes individuales utilizados en la elaboración de mezclas para Nutrición Parenteral, contienen, como contaminantes, microminerales esenciales que aportan cantidades extras de zinc, cobre, cromo, selenio, manganeso y molibdeno. Las cantidades presentes varían según el tipo de fabricante, envase, componente analizado, lote, fecha de vencimiento, etc. Esa contaminación podría comprometer la evolución del paciente crítico.

En los componentes individuales estudiados y en las mezclas preparadas para pacientes adultos, en Argentina, se comprobó que las dosis administradas superaban a las calculadas en base al nivel de contaminación hallado. Estos resultados eran esperables puesto que no se ha estudiado la contaminación en la totalidad de los componentes individuales utilizados en la preparación de las mezclas de NP.

Las cantidades encontradas de zinc y cobre no traerían inconvenientes en pacientes clínicamente estables. Sin embargo el exceso de zinc podría producir efectos adversos en pacientes con enfermedades inflamatorias o insuficiencia renal. En el caso del exceso de cobre, se debe tener especial cuidado en neonatos y en niños con alteración hepática o colestasis. Estos minerales provienen de contaminación no prevista y muy difícil de evitar y controlar por parte de la industria durante el proceso de fabricación de los componentes. En consecuencia, tanto los laboratorios fabricantes como los farmacéuticos, responsables de su producción y control de calidad, deberían controlar periódicamente el contenido de zinc y cobre de los productos utilizados en la preparación de las mezclas de NPT.

Sería aconsejable solicitar su declaración en el rótulo para evitar tanto las deficiencias como los excesos, que pueden comprometer la evolución del paciente grave, fundamentalmente, en Neonatología y Pediatría.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Driscoll DF; Mirtallo JM; Helms RA; Bistran BR. (1999). Parenteral Nutrition: A Pocket Guide. Astra-Zeneca Ed, USA.1-87.
- (2) Sitges Serra A. (1986). Alimentación parenteral: bases metabólicas y técnicas. Cap. 5. Técnicas de soporte nutricional. Indicaciones de la alimentación parenteral. Sitges Serra A (edt.). Barcelona, España: Editorial Salvat:69-75.
- (3) Anaya Prado R; Arenas Márquez H; Arenas Moya D. (2012). Nutrición Enteral y Parenteral. 2da. Edición. Sección 4: Cap. 26. McGraw-Hill Interamericana, México DF: 219-31.
- (4) Perkiewicz M; Cosslett A; Muhlebach S; Dudrick SJ. (2004) Cap 6 Parenteral Nutrition in Sobotka Lubos Basics in Clinical Nutrition. Third Edition. European Society for Clinical Nutrition and Metabolism-ESPEN. 264-9.
- (5) Hak EB; Storm MC; Helms RA. (1998) Chromium and zinc contamination of parenteral nutrition solution components commonly used in infants and children. Am J Health Syst Pharm; 15; 55 (2): 150-4.
- (6) Menéndez AM; Montemerlo H; Weisstaub AR; Alloatti S; Russi F; Guidoni ME; Casavola C; Piñeiro A; Pita Martín de Portela ML. (2005) Niveles plasmáticos y eritrocitarios de zinc y cobre en pacientes críticos con nutrición parenteral y su relación con el contenido de las fórmulas: estudio preliminar. Nutrición Hospitalaria. 20 (9), 189-96,
- (7) Pluhator-Murton MM; Fedorak RN; Audette R, Marriage BJ; Yascoff RW ; Gramlich R, (1999) Trace Element Contamination of TPN.1.Contribution of component Solutions. JPEN; 23: 222-7.
- (8) Comité consultivo formado por la Organización Mundial de la Salud, la Organización de Alimentos y Agricultura y la Agencia Internacional de Energía Atómica (WHO-FAO-IAEA), WHO (World Health Organization). (1996) Trace Elements in Human Nutrition and Health. Prepared in collaboration with the Food and Agricultural Organization of the United Nations and the International Atomic Energy Agency. Geneva, WHO.
- (9) Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. (2001).Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary References Intakes, Food and Nutrition Board&Institute of Medicine, National Academy of Sciences, Washington, DC.
- (10) Mertz W. (1998) Review of the scientific basis for establishing the essentiality of trace elements. Biol Trace Element Res 66: 185-191.
- (11) Nielsen FH. (2009) Micronutrients in parenteral nutrition: boron, silicon, and fluoride. Gastroenterology; 137(5):S55-S60.
- (12) Menéndez AM y Pita Martín de Portela ML. 2012. Necesidades de zinc y cobre en las fórmulas de nutrición parenteral para adultos Rev Farma. 154: 39-55.
- (13) Forbes A. (2009) Iron and parenteral nutrition. Gastroenterology.137(5): S47-S54.
- (14) Zimmermann MB. (2009) Iodine: it's important in patients that require parenteral nutrition. Gastroenterology. 137 (5):S36-S46.
- (15) Mirtallo J; Todd Canada; Johnson D; Kumpf V; Petersen C; Sacks G; Seres D; Guenter P. (2004) A.S.P.E.N. Board of Directors, Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 28 (6).
- (16) Vanek VW; Borum; Buchman A; Fessler ThA; Howard L; Khursheed Jeejeebhoy; Kochevar M; Shenkin A; Valentine ChJ. (2012) A.S.P.E.N. Position Paper: Recommendations for Changes in Commercially Available Parenteral Multivitamin and Multi-Trace Element Products. Nutrition in Clinical Practice. 20 (10) 1-52.
- (17) Ito Y; Alcock NW; Shils ME. (1990) Chromium content of parenteral nutrition solutions. J Parenter Enteral Nutr.14:610-4.
- (18) Kurkus J; Alcock NW; Shils ME. (1984) Manganese content of large volume parenteral solutions and of nutrient additives. J Parenter Enteral Nutr.8: 254-7.
- (19) Bertinet DB; Tinivella M; Balzola FA; et al. (2000) Brain manganese deposition and blood levels in patients undergoing home parenteral nutrition. J Parenter Enteral Nutr. 24(4): 223-7.
- (20) Dickerson RN. Manganese intoxication and parenteral nutrition. Nutrition.2001;15:689-693.
- (21) Takagi Y; Okada A; Sando K; et al. (2002) Evaluation of indexes of in vivo manganese status and the optimal intravenous dose for adult patients undergoing home parenteral nutrition. Am J Clin Nutr.75:112-8.
- (22) Hardy G. (2009) Manganese in parenteral nutrition: who, when, and why should we supplement? Gastroenterology.;137(5):S29-S35.
- (23) Angstwurm MW; Engelmann L; Zimmermann T; et al. (2007) Selenium in intensive care (SIC): results of a prospective randomized, placebo-controlled, multiple-center study in patients with severe systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and septic shock. Crit Care Med. 35(1):118-26.

- (24) Forceville X. (2007) Effects of high doses of selenium, as sodium selenite, in septic shock patients a placebo-controlled, randomized, double-blind, multi-center phase II study—selenium and sepsis. *J Trace Elem Med Biol.* 21 (suppl 1):62-5.
- (25) Mishra V; Baines M; Perry SE; et al. (2007) Effect of selenium supplementation on biochemical markers and outcome in critically ill patients. *Clin Nutr.*26(1): 41-50.
- (26) Hardy G; Hardy I; Manzanares W. (2012) Selenium supplementation in the critically ill. *Nutr Clin Pract* 27:21-33.
- (27) Friel JK; Mac Donald AC; Mercer CN et al. (1999) Molybdenum requirements in low-birth-weight infants receiving parenteral and enteral. *Nutrition. J parenter enteral nutr*, 23; 155-9.
- (28) Jeejeebhoy K. (2009) Zinc: an essential trace element for parenteral nutrition. *Gastroenterology.*137 (5)(suppl):S7-S12.
- (29) Wolman SL; Anderson GH; Marliss EB; et al. (1979) Zinc in total parenteral nutrition: requirements and metabolic effects. *Gastroenterology.*76: 458-67.
- (30) Berger MM; Cavadini C; Bart A, et al. (1992) Cutaneous copper and zinc losses in burns. *Burns.*18 (5):373-80.
- (31) Blaszyk H; Wild PJ; Oliveira A; et al. (2005) Hepatic copper in patients receiving long-term total parenteral nutrition. *J Clin Gastroenterol.*39: 318-20.
- (32) Mason KE. (1979) A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man. *J Nutr.* 109:1979-2066.
- (33) Shike M; Roulet M; Kurian R, et al. (1981) Copper metabolism and requirements in total parenteral nutrition. *Gastroenterology.*81:290-7.
- (34) American Medical Association, Department of Foods and Nutrition –1979b– Guidelines for essential trace element preparations for parenteral use: A statement by an expert panel – *JAMA*; 1979, 241 (19): 2051-4.
- (35) Karpel JT; Peden VH. (1972) Copper deficiency in long-term parenteral nutrition. *J Pediatr*; 80)32-6.
- (36) Spiegel JE, Willenbucher RF. (1999) Rapid development and severe Copper deficiency in a patient with Crohn's disease receiving TPN 23(3):169-72.
- (37) Hurwitz M; García MG; Poole RL; Kerner JA. (2004) Copper Deficiency During Parenteral Nutrition: A Report of four Pediatric Cases. *Nutrition in Clinical Practice.* 19(3): 305-8.
- (38) Greene HL; Hambidge KM; Schanler R; Tsang RC. (1988) Guidelines for the use of vitamins, trace elements, calcium, magnesium, and phosphorus in infants and children receiving total parenteral nutrition: report of the Subcommittee on Pediatric Parenteral Nutrient Requirements from the Committee on Clinical Practice Issues of the American Society for Clinical Nutrition. *Am J Clin Nutr*, (148):1324-42.
- (39) Shenkin A. (2000) Trace elements and vitamins in parenteral and enteral nutrition. *Basics in Clinical Nutrition.* 2a. ed. Chap. 3.6; p. 66-67. Edited for ESPEN Courses, Czech Republic,
- (40) Shenkin A. (2004) Cap 4 Trace elements and vitamins in parenteral and enteral nutrition in Sobotka Lubos *Basics in Clinical Nutrition.* Third Edition. European Society for Clinical Nutrition and Metabolism-ESPEN. 169-79.
- (41) Prelack K; Sheridan L. (2001) Micronutrient Supplementation in the critically III Patient: Strategies for Clinical Practice. *J Trauma* 51 (3):601-20.
- (42) Pluhator-Murton MM; Fedorak RN; Audette RJ; Marriage BJ; Yascoff RW; Gramlich R. (1999) Trace Element Contamination of TPN. 2. Effect of storage duration and temperature. *JPEN*; 23:228-232.
- (43) Menéndez AM; Weisstaub AR; Montemerlo HJ; Rusi F; Guidoni ME; Piñeiro A; Pita Martín de Portela ML. (2007) Contenido de zinc y cobre en los componentes individuales de las mezclas para fórmulas pediátricas de nutrición parenteral total. *Nutr Hosp.* 22 (5): 545-51.
- (44) Menéndez AM (2009). Requerimientos de zinc y cobre en formulas de nutrición parenteral total (NPT: relación con los requerimientos y con la evolución clínica y bioquímica de pacientes adultos críticos. Tesis, Universidad de Buenos Aires-UBA.
- (45) O'Dell BL. (1990) Copper. En: *Present Knowledge in Nutrition*, 6a ed., Chap. 29. ML Brown Ed. Nutrition Foundation, Washington, D.C., p. 261-7.
- (46) Turnlund JR. (1994) Copper. En: *Modern Nutrition in health and disease*. Shils ME, Olson JA & Shike M, eds. Vol 1, 8ª Ed; Lea & Febiger, Cap. 11, 231-241. Philadelphia, PA.
- (47) Sivasubramanian KN; Henkman RL. (1978) Behavioral and dermatological changes and low serum zinc and Copper concentrations in two premature infants after parenteral alimentation. *Journal Pediatric*, 93 (5): 847-51.
- (48) Boosalis, M.G. (2001) Micronutrients. In: *The Science and Practice of Nutrition Support: A Case-Based Core Curriculum*, Kendall/Hunt Publishing Co. Dubuque, IA, Publications,;85-106.
- (49) Menéndez AM; Pita Martín de Portela ML; Weisstaub A; Montemerlo H; Guidoni ME; Rusi F; Zeni S. (2009) Influencia del Zinc administrado a pacientes críticos con nutrición parenteral sobre los niveles de Zinc plasmático, Proteína C Reactiva, Interleuquina-6 y Receptor soluble de Interleuquina-6. *Nutr Hosp.* 24 (3) 340-6;.

INTERCAMBIO DE MECANISMOS DE RESISTENCIA ENTRE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

Di Conza José^{1,2}, Power Pablo¹, Gutkind Gabriel¹.

¹Laboratorio de Resistencia Bacteriana. Facultad de Farmacia y Bioquímica – Universidad de Buenos Aires. Junin 956. Capital Federal.

²Cátedra de Microbiología General, Facultad de Bioquímica y Cs Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe.

CONTENIDOS

RESUMEN	57
SUMMARY	58
INTRODUCCIÓN	58
LOS ELEMENTOS GENÉTICOS FLUCTUANTES Y LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS	59
VEHÍCULOS PARA EL INTERCAMBIO GENÉTICO	59
PLÁSMIDOS	60
ELEMENTOS TRANSPONIBLES	61
INTEGRONES	64
INTEGRONES DE RESISTENCIA (RI)	64
SUPERINTEGRONES (SI)	66
CONCLUSIÓN	66
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	67

RESUMEN

La magnitud global de la resistencia a los antimicrobianos de uso clínico es alarmante adquiriendo una dimensión destacada en países de desarrollo intermedio quienes suelen ser cuantitativamente los más afectados por la emergencia de mecanismos de resistencia dado el acceso a tratamientos con antibióticos de reserva pero una pobre vigilancia o empleo no riguroso de medidas de contención de la resistencia.

En este trabajo se realizará una revisión sobre las estructuras genéticas movilizables, que si bien no son esenciales para las bacterias, aportan genes adicionales que le permiten una mejor adaptación a ambientes hostiles.

El intercambio de genes de resistencia entre las bacterias permite equipar a un microorganismo sensible a antibióticos con un verdadero arsenal de mecanismos de resistencia, incluso en un único evento de intercambio. La transferencia horizontal de genes de resistencia entre bacilos gram negativos es debida en gran parte a plásmidos (más o menos promiscuos) y a los elementos transponibles e integrones que pueden formar parte del o de los replicones presentes en estos microorganismos.

Los integrones son plataformas genéticas que han despertado gran interés desde el punto de vista clínico ya que algunos de ellos vehiculizan genes de resistencia a los antimicrobianos. Están formados por un fragmento que codifica una integrasa (*intI*) seguido por una secuencia *attI*, sistema que permite la captura de los genes en casetes (que codifican para diferentes mecanismos de resistencia). Se habla, en general, de integrones “móviles” a aquellos asociados a secuencias de inserción, transposones y/o plásmidos conjugativos, que en su mayoría median mecanismos de resistencia, y “super” integrones, de localización cromosómica con grandes arreglos de genes en casetes.

Palabras clave: plásmido, transposón, integrón, gen en casete

SUMMARY

Antimicrobial resistant microorganisms are an alarming problem worldwide, gaining remarkable importance in moderately developed countries which are usually quantitatively more affected by their emergence.

In this paper we conduct a review about mobile genetic structures, which although not essential for bacteria, provide additional genes that allow them to better adaptate to unfavorable environments.

Resistance genes' exchange between bacteria could arm a susceptible microorganism with an arsenal of resistance mechanisms, even in a single exchange event. Horizontal transfer of resistance genes among gram-negative bacilli is largely due to plasmids and transposable elements, and integrons may be part of the replicons present in these organisms.

In recent decades, integrons gained great interest because of their participation in resistance genes recruitment and expression. Their basic structure includes a fragment that encodes an integrase (*intI*) followed by a recognition sequence (*attI*) in which they may incorporate gene cassettes (encoding resistance mechanisms). In general, they are divided in "mobile" integrons (those associated with insertion sequences, transposons and/or plasmids, most of them related to resistance mechanisms), and chromosomally-located "super" integrons with large arrangements of cassettes.

Keywords: plasmid, transposon, integron, gene cassette

INTRODUCCIÓN

Directa e indirectamente, el uso de drogas antimicrobianas ha transformado la práctica médica ya que en muchas ocasiones, se han vuelto fácilmente curables muchas enfermedades infecciosas que antes eran mortales. Sin embargo, esta percepción ha cambiado significativamente durante los últimos 10-15 años, observándose una pérdida parcial o total de la eficacia de los antibióticos sobre la población bacteriana a tratar. La resistencia microbiana a los antibióticos en la actualidad abarca a todas las clases conocidas de compuestos naturales y sintéticos. La emergencia y diseminación de la misma no sólo ha obstaculizado el tratamiento de las infecciones, sino también ha impulsado, drásticamente, la aparición de una nueva colección de patógenos; los denominados "multirresistentes". Incluso, como se puede observar actualmente en los informes periódicos de la prensa, la aparición de las '*superbacterias*', que muestran la comunión de múltiples mecanismos de resistencia o la conjunción de éstos con diferentes factores de virulencia, nos alerta sobre esta problemática, nos motiva a entender el surgimiento de ellas y nos impulsa a revisar las medidas de contención de infecciones en la era de los antibióticos.

Queda preguntarnos, entre otros interrogantes, qué se ha hecho mal en tan poco tiempo y dentro de esta pregunta, cuáles fueron los factores subestimados.

Uno de los descuidos que nos gustaría destacar es el intercambio de genes de resistencia entre las bacterias. Muchos de ellos funcionan de manera eficiente bajo determinada presión selectiva permitiendo incluso equipar a un microorganismo desprotegido o sensible a antibióticos con un verdadero arsenal de mecanismos de resistencia, y todos ellos podrían arribar en un único evento de intercambio de material genómico.

LOS ELEMENTOS GENÉTICOS FLUCTUANTES Y LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

Si bien las bacterias presentan métodos de intercambio de genes diferentes a los observados en células eucariotas, cumplen de igual modo con las leyes de la evolución por selección natural. El ejemplo más evidente de la evolución impulsada por la selección en los patógenos es la selección de resistencia a los antibióticos. Este concepto no debe ser subestimado cuando se aborda este problema, teniendo en cuenta que la resistencia ha sido observada para la mayoría de las familias de antibióticos ofertados en el mercado.

Más de medio siglo ha transcurrido desde el reconocimiento de la participación de las primeras estructuras de transferencia de los genes de resistencia adquiridos por las bacterias para evadir la acción de antibióticos, hasta reconocer la participación de sistemas que movilizan y que contribuyen a la inclusión de nuevos mecanismos ampliando así el espectro de resistencia.

Uno de los desafíos microbiológicos es entender el repertorio de los procesos y elementos genéticos que las células procariotas tienen a su disposición, y sobre el cual la selección natural puede actuar. En los patógenos existentes y de reciente aparición, la supervivencia, el establecimiento y el éxito de las cepas con mayor patogenicidad o resistencia a los antibióticos pueden resultar de la ganancia de genes que se adquirieron en un ambiente alejado de los seres humanos y en una bacteria que aún no se ha cultivado.

Un microorganismo puede adquirir información para sortear la actividad antimicrobiana por dos caminos diferentes: 1- por mutaciones o por recombinaciones sobre genes residentes generando nuevos genes de resistencia y/o 2- adquiriendo genes de resistencia a partir de una fuente exógena. Los mecanismos de intercambio genético involucrados en procariotas para el intercambio de ADN (conocidos como procesos de Transferencia Horizontal de Genes - THG) pueden ser conjugación, transformación y/o transducción. Así, la THG es una de las principales estrategias de la biosfera microbiana que en potencia les permite disponer de todos los genes de un recurso común y compartido donde se pueden movilizar y transferir muy rápidamente genes útiles incluso entre microorganismos distantes filogenéticamente.

De los procesos de THG mencionados, la conjugación parece ser el proceso *in vivo* más exitoso por el cual se diseminan genes de resistencia entre poblaciones bacterianas gram negativas.

El control de enfermedades infecciosas a largo plazo no sólo se tiene que abordar desde la antibioticoterapia sino que debe complementarse con medidas de intervención que surjan de la comprensión de los conceptos básicos de la biología evolutiva y la epidemiología y de cómo se aplican a los microorganismos procariotas.

VEHÍCULOS PARA EL INTERCAMBIO GENÉTICO

La transferencia horizontal de genes de resistencia entre miembros de diferentes familias de bacilos gram negativos (y en especial aquellas de gran importancia clínica como *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonadaceae*) es debida en gran parte a plásmidos (más o menos promiscuos) y a los **transposones** e **integrones** que pueden formar parte del o de los replicones presentes en estos microorganismos. A continuación se detallan estos vehículos de comprobada cooperación en los ciclos evolutivos.

PLÁSMIDOS

Existe un porcentaje amplio de bacterias que presentan naturalmente ADN que se encuentran en la forma de elementos extracromosómicos, autorreplicativos, denominados plásmidos, que se heredan de forma estable. Estos elementos codifican funciones no esenciales para las células (virulencia, resistencia, rutas catabólicas alternativas, bacteriocinas, etc) pero que aportan una ventaja selectiva en determinados nichos. Muchos de ellos son capaces de ser transferidos a un “amplio rango de huéspedes”, traspasando incluso los límites de género y especie. Las primeras cepas resistentes (documentadas) fueron *Shigella flexneri* aisladas en Japón a fines de los '50s. En estos aislamientos se hallaron plásmidos, llamados entonces *factores R*, que podían (y de hecho hicieron) transferir esa resistencia a otras bacterias sensibles (1).

Desde muy temprano se los han dividido en plásmidos F (Fertilidad) y R (Resistencia). Los plásmidos F portan una región con genes (*tra*) capacitándolos para gobernar su propia transferencia mediante el proceso de conjugación. Más adelante se encontró que muchos plásmidos R codifican genes de transferencia y/o replicación tipo F (pudiendo haber ocurrido por recombinación entre ellos). El comportamiento “promiscuo” que presentan los plásmidos conjugativos R es el factor principal en la diseminación de genes de resistencia a antibióticos y de otros inhibidores del crecimiento (2, 3).

Uno de los plásmidos R más estudiado es el plásmido R100 (94,5 kb) también conocido como NR1, el cual contiene genes de transferencia tipo F (*tra*), los genes necesarios para el proceso autónomo de replicación (*rep*) y lleva genes de resistencia para las sulfonamidas, estreptomicina, cloranfenicol, tetraciclinas y ácido fusídico, como así también genes que codifican resistencia a sales mercuriales. Muchos de estos determinantes pueden estar dentro de elementos transponibles como la copia de Tn10 presente y el transposón Tn21 portador del integrón *Int2*, el cual se encuentra insertado dentro de Tn9 (Figura 1) (4)

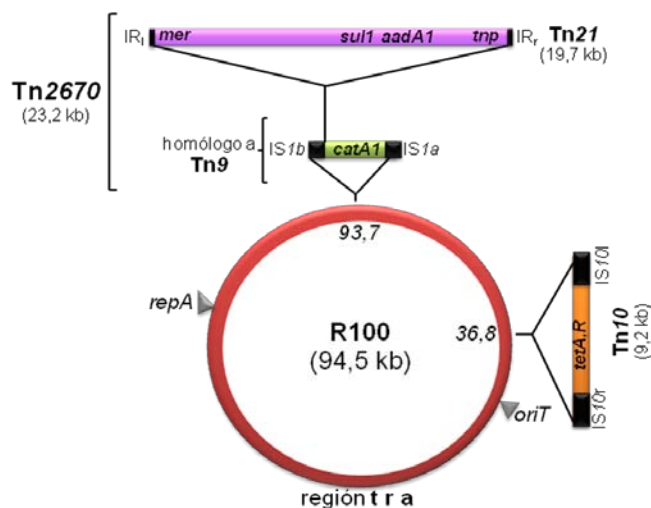


Figura 1: Esquema del plásmido conjugativo R100 que codifica resistencia a múltiples antibióticos. Extraído del trabajo Liebert *et al.*, 1999 (4). Es un plásmido auto-transmisble, es el arquetipo de una gran colección de plásmidos R similares que han sido descubiertos en todo el mundo. R100 pertenece al grupo de incompatibilidad FII y se considera que posee dos componentes: 1- un factor de transferencia de la resistencia, que lleva los genes de la auto-transmisibilidad (región *tra*), de replicación autónoma (*repA*) y el origen de la transferencia (*oriT*) para el proceso de conjugación y, 2- una región que contiene determinantes de resistencia compuesto por un transposón tipo Tn9, que contiene el gen *catA1* (confiere resistencia a cloranfenicol) y el transposón Tn21 (ver más adelante). Esta región está delimitada por repeticiones directas (*IS1a* y *IS1b*) y es en sí mismo el transposón Tn2670. Tn21 está delimitado por regiones invertidas y repetidas (*IRI* y *IRr*). R100 contiene también el transposón Tn10, que porta los genes *tetA* (confiere resistencia a la tetraciclina) y *tetR* (represor) y está limitado por la secuencia de inserción *IS10*.

Algunos plásmidos pueden además llevar genes cromosomales. Un buen ejemplo es la descripción de β -lactamasas cromosomales tipo AmpC localizadas en plásmidos. Cabe recordar que los plásmidos F pueden transferir grandes bloques de genes cromosomales durante el proceso de conjugación (2, 5) si se hallan integrados a ADN cromosómico (episomas).

ELEMENTOS TRANSPONIBLES

Son segmentos discretos de DNA con capacidad para moverse entre una localización genética (sitio donador) y otra (sitio receptor). A diferencia de otros procesos de reorganización, este movimiento, llamado transposición, no requiere grandes zonas de homología entre ambos sitios. Este proceso es catalizado por una enzima llamada transposasa codificada por el propio elemento genético (6). En bacterias gram negativas hay diversos elementos transponibles que desempeñan un papel fundamental en la dispersión de la resistencia, y algunos de ellos contribuyen a la movilización de integrones (7).

Los elementos transponibles más simples son las **secuencias de inserción** o **elementos IS**. Un elemento IS es una secuencia de DNA corta (entre 750 y 1600 bp) que contiene solamente los genes que codifican las enzimas requeridas para la transposición y en ambos extremos una región pequeña de nucleótidos en orientación invertida, conocidas como “Inverted Repeats” (IR) (Figura 2). Generalmente las IRs tienen un tamaño de 15 a 25 bp y es característica para cada tipo de IS. Estos elementos se nombran con el prefijo IS seguido por un número (8).

Existen elementos transponibles que contienen genes adicionales, aparte de aquellos requeridos para la transposición, como por ejemplo genes de resistencia a drogas, a metales pesados, a marcadores catabólicos y/o a toxinas. Un “transposón” se diferencia de un “elemento IS” porque presentan genes extras que codifican al menos una función que cambia el fenotipo de la célula receptora de manera predecible (por ejemplo la resistencia a un antibiótico). Un grupo notorio de estos transposones son los llamados **transposones compuestos o clase 1**. En general, son considerados sistemas modulares contruidos por una región central que contiene los genes extras, flanqueados por “elementos IS” que son idénticos o muy similares. Las IS, en este caso, pueden estar en la misma orientación o, más frecuentemente, en orientación invertida (Figura 2). Para nombrarlos se utiliza el prefijo Tn (9, 10).

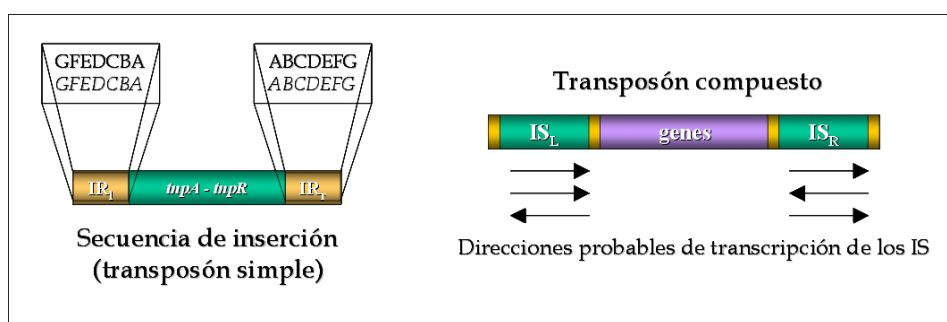


Figura 2: Izquierda: Esquema de una secuencia de inserción (IS), posee dos repeticiones invertidas (IR) que flanquean los genes necesarios para su transposición: *tnpA* (transposasa) y/o *tnpR* (resolvasa). Las IR se simbolizan con letras rectas para la cadena 5'-3', y en itálica para la complementaria. Derecha: transposón compuesto, formado por dos IS que envuelven otros marcadores génicos (resistencia a antibióticos, por ejemplo); uno o ambos módulos IS pueden ser funcionales, y su orientación puede ser variable. Adaptado de Lewin B (11).

La transposasa es requerida para la transposición, reconociendo y cortando en los sitios IR de modo sitio específico. En un transposón compuesto, una o ambas IS pueden ser funcionales, y por lo tanto cualquiera de las dos puede regir la transposición de sí misma (como módulo individual) o del conjunto. Como ejemplos de transposones compuestos que contienen genes de resistencia a antibióticos en bacterias gram negativas (particularmente en enterobacterias) podemos citar a Tn5 (que contiene genes de resistencia a kanamicina y estreptomycin flanqueados por dos copias de IS50), Tn9 (que codifica resistencia a cloranfenicol y es cercado por IS1) o Tn10 (donde las copias de IS10 engloban los genes de resistencia a tetraciclina) (7). Probablemente, estos transposones se formaron cuando dos IS se ubicaron flanqueando esos genes, y esas estructuras luego son capaces de ser movilizadas a otros sitios de la misma molécula de ADN, o a otro replicón diferente, como ser un plásmido conjugativo.

Otro grupo de elementos transponibles son los llamados **transposones complejos**. Es probablemente el grupo mayoritario de elementos genéticos transponibles, encontrándose ampliamente distribuidos entre las enterobacterias. La génesis de este tipo de elementos es menos fácil de explicar, donde las funciones de transposición y las extras no han sido ensambladas en un sistema modular sino que presentan un sistema complejo. Los ejemplos más conocidos de transposones complejos son Tn3 y Tn21 los cuales son habitualmente denominados como transposones **clase 2** o de la **Familia Tn3**. Los transposones de esta familia tienen tamaños relativamente grandes y se encuentran delimitados por repeticiones terminales IRs de 35-40 bp. Como maquinaria implicada en la transposición cuenta con genes *tnpA* y *tnpR* (codificantes de las enzimas transposasas y resolvasa respectivamente) y un sitio *res* que participa de la resolución del proceso de transposición. El mecanismo de transposición es replicativo y ocurre en dos etapas. En la primera, TnpA promueve la formación de un cointegrado entre la molécula dadora y la receptora y además ocurre la replicación del transposón. En la segunda etapa, TnpR resuelve el cointegrado entre las secuencias *res* de cada una de las copias del transposón mediante un proceso de recombinación específico de sitio. El resultado es la resolución del cointegrado, con separación de las dos moléculas de ADN y la duplicación del transposón, quedando una copia en el genoma receptor y manteniéndose otra en el sitio donante (11).

El transposón Tn3 contiene el gen de la β -lactamasa TEM-1 confiriendo resistencia a un número de antibióticos β -lactámicos y se ha diseminado entre las enterobacterias en plásmidos de varios grupos de incompatibilidad. También se observó la transferencia horizontal de Tn3 entre *Haemophilus* spp. y *Neisseria* spp., a mediados de la década del '70 (2).

Otro ejemplo es el transposón Tn21 (de aprox. 20 kb) que participa activamente en la diseminación global de la resistencia en bacterias y además es considerado como el paradigma de la evolución molecular de los mecanismos de resistencia (4). Este elemento confiere resistencia a diversas clases de antimicrobianos como a estreptomycin, espectinomycin y sulfonamidas. Además, incluye el operón *mer*, cuyos productos intervienen en la detoxificación de compuestos mercuriales orgánicos e inorgánicos. Dentro de su estructura contiene a un integrón de clase 1 (In2), donde se halla localizado el gen en casete que codifica la resistencia a los aminoglucósidos antes mencionados (*aadA1*). En estas estructuras se hallan vestigios de otros transposones (un módulo *tni* defectivo conteniendo *tniBA1* y *tniA*) y dos secuencias de inserción: IS1326 e IS1353 (Figura 3).

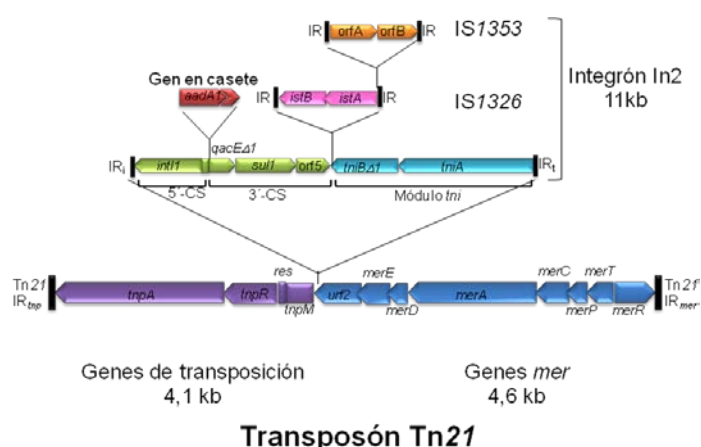


Figura 3: Esquema del transposón Tn21 adaptado del manuscrito de Liebert *et al* (4). Las barras verticales negras indican las repeticiones invertidas (IR) que limitan los transposones y las secuencias de inserción (IS). La región para la transposición (en color violeta) consta de genes para la transposasa (*tnpA*), la resolvasa (*tnpR*), un posible regulador de transposición (*tnpM*) y el sitio de resolución (*res*) para Tn21. Este elemento transponible contiene un integrón clase 1 (en color verde, ver más adelante) constituido por un segmento 5' conservado (5'-CS) que incluye el gen de la integrasa (*intI1*) y un segmento 3' conservado (3'-CS) que incluye genes que codifican para la resistencia a los desinfectantes de amonio cuaternario (*qacEΔ1*) y la resistencia a la sulfonamida (*sul1*) y un ORF (*orf5*) de función desconocida. El gen en casete *aadA1* codifica para una aminoglucósido adeniltransferasa. Además, contiene dos secuencias de inserción (IS1353, de color naranja, que se inserta en IS1326, de color rosa). El módulo de genes *tni*, de color celeste, ha sufrido una delección en el Tn21 y sólo quedan *tniA* y una porción de *tniB*. El operón de resistencia al mercurio (*mer*), de color azul, está constituido por los genes de regulación *merR* y *merD* y los genes estructurales *merT*, *merP*, *merC*, y *merA*. Hay dos marcos de lectura desconocidos, *urf1* (también llamado *merE*) y *urf2*. Las flechas indican la dirección de la transcripción.

Tn3, Tn21 y elementos similares son probablemente elementos algo más antiguos que la mayoría de los transposones compuestos y su diversidad surge como resultado de múltiples eventos de recombinación incluyendo tanto inserciones como delecciones. En ellos, ha sido demostrado que el incremento del tamaño del elemento transponible reduce su frecuencia de transposición (7).

Otro grupo peculiar de transposones complejos lo componen Tn7 y los elementos relacionados, los cuales utilizan el mecanismo de transposición conservativa, que implica la pérdida del transposón del sitio donador para ser trasladado al sitio receptor. Estos elementos se distinguen entre los transposones porque su transposición requiere de múltiples proteínas codificadas por el elemento: TnsA, TnsB, TnsC, TnsD y TnsE (12). El Tn7 (cuyo tamaño es aprox. 14 kb) es el responsable de la movilización de integrones clase 2 el cual posee distintos casetes de resistencia: *dfrA1* (confiere resistencia a trimetoprima), *sat2* (otorga resistencia a estreptotricina), *aadA1* (otorga resistencia a espectinomicina y estreptomycinina) y *orfX* de función desconocida (13).

Los transposones pueden considerarse como parte de un “genoma flotante”, ya que tienen como característica principal la capacidad de movilizarse, de manera independiente al genoma bacteriano, desde un sitio donante a otro aceptor en el mismo genoma o en otro diferente (4).

INTEGRONES

En forma gráfica, se podría pensar a los integrones como verdaderos *kits* naturales de clonado y expresión de genes, brindando la maquinaria completa para una eficiente adquisición (y escisión) de ORFs a través de eventos de recombinación específica de sitio dirigiendo su expresión para convertirlos en genes funcionales (14, 15). Sus componentes esenciales son: 1- el gen que codifica para una recombinasa sitio-específica perteneciente a la familia de las integrasas (*intI*); 2- un sitio adyacente (primario) de recombinación (*attI*), que es reconocido por la integrasa para mediar la recombinación entre este sitio primario *attI* y el secundario *attC*; y 3- un promotor fuerte, que solapa con el gen *intI*, orientado correctamente para la expresión de los genes incorporados.

El sitio secundario de recombinación *attC* se encuentra asociado comúnmente a un único ORF, carente de promotor propio, y la estructura *attC*-ORF se denomina gen en casete. La inserción de estas pequeñas unidades génicas móviles en el sitio primario *attI* permite que se manifieste en la bacteria el producto que codifica (Figura 4). Es por ello que las bacterias que poseen integrones tienen la posibilidad de incorporar genes que se encuentran en el citoplasma bacteriano bajo la forma de genes en casete. Estos genes en casete no son parte necesaria de integrones pero forman parte de los integrones cuando se hallan integrados. De esta manera, los integrones pueden adquirir nuevos determinantes, por ejemplo de virulencia o resistencia a antibióticos, nuevas funciones metabólicas, etc., lo cual brinda a la bacteria hospedadora una amplia versatilidad de adaptación a nuevas condiciones de supervivencia (16, 17).

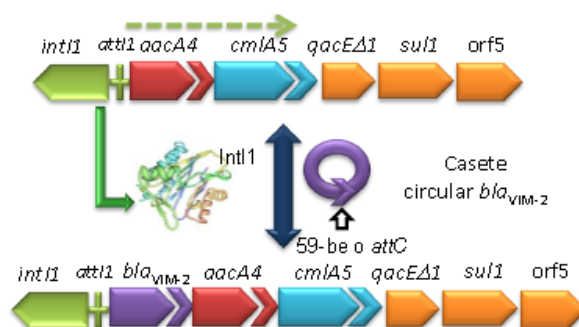


Figura 4: Inserción de genes en casete en integrones clase 1. Se seleccionó el casete que codifica para la carbapenemasa VIM-2 como ejemplo de gen a incorporar. Dentro de la región variable contamos además con genes casete que codifican para resistencia a aminoglucósidos (*aacA4*) y cloranfenicol (*cmlA5*). Además, se muestra la estructura del gen en casete circular *bla_{VIM-2}* donde se destaca el sitio de reconocimiento de la integrasa 59-be o *attC* como parte de su estructura. *intI1*, gen que codifica para la integrasa; IntI1: integrasa clase 1. La flecha en línea de puntos indica la dirección de la transcripción de los casetes. Adaptado del trabajo de Di Conza, Gutkind, 2010(18).

En base a una variedad de criterios, los integrones se clasifican actualmente en dos grandes grupos: I- los llamados integrones de resistencia a antibióticos - RI- (a veces denominados “móviles”), que será el grupo de mayor relevancia clínica, y II- los superintegrónes – SI - presentes en el cromosoma bacteriano (16, 19-21).

Integrónes de resistencia (RI)

Los integrónes de resistencia presentan fundamentalmente casetes de resistencia a antimicrobianos agrupados en arreglos relativamente pequeños. En base a la secuencia aminoacídica de las integrasas se clasifican en integrónes clase 1, 2 y 3 (10, 21). Los **integrónes clase 1** (*intI1*) son los más prevalentes en aislamientos clínicos y se hallan altamente asociados a bacilos gram negativos multirresistentes. En la actualidad han cobrado una gran importancia por el amplio rango de bacterias

que infectan al hombre y los animales donde han sido reportados. Contienen dos segmentos conservados que flanquean una región central (región variable), donde se insertan los casetes que codifican para la resistencia a antibióticos. El segmento 5'conservado (5'CS) incluye el gen de la integrasa (*int1*) y el sitio *att1*. En general, el segmento 3'conservado (3'CS) en los integrones clase 1 incluye un gen deletado pero funcional del gen *qacE1*, que codifica resistencia a antisépticos y desinfectantes (*qacEΔ1*), el gen que lo hace para las sulfonamidas (*sul1*) y un marco de lectura abierto (*orf5*) de función desconocida (Figura 5a).

Los genes en casete se encuentran insertados entre ambos segmentos conservados 5'CS y 3'CS, dando lugar a la región variable (RV) (15). Existe una proporción sustancialmente grande de marcadores de resistencia que se encuentran como genes en casete. A pesar de que el contenido de casetes suele ser pequeño en este grupo de integrones, a la fecha se encuentran reportados más de 100 arreglos diferentes dentro de esta clase, lo cual está directamente relacionado con la variedad de mecanismos de resistencia a casi todas las familias de antibióticos ya encontrados en casetes. El número de genes en casete en RV es variable, describiéndose integrones con región variable nula, como en In0 (22), hasta algunos con más de siete genes en casete (23-26); sin embargo la presencia de dos o tres casetes suele ser lo más observado en las secuencias depositadas en base de datos.

Existe un subgrupo de integrones clase 1 denominados complejos o inusuales que se han asociado a otros elementos (*ISCR1*) que participan en el reclutamiento (y a veces en la expresión) de genes de resistencia que no se hallan en forma de casete. Estos integrones contienen una copia completa del segmento conservado 5'CS pero presentan dos copias completas o parciales del segmento 3'CS (27). Entre las dos copias de 3'CS hay una región de 2,1 kb idéntica que contiene los componentes típicos de un elemento CR (región común) seguida por una región variable que contiene genes de resistencia. En la región idéntica se encuentra un marco abierto de lectura denominado *orf513*, que podría codificar para una posible recombinasa, la que reconocería otro sitio de recombinación donde se insertan los genes de resistencia (carentes de *attC*) (28, 29).

En nuestro país, fueron caracterizados diversos integrones clase 1 complejos. El más estudiado fue aquel que se haya asociado a la enzima CTX-M-2 (dado que es una de las β -lactamasas de espectro extendido prevalentes en Argentina), razón por la cual se lo describió en diferentes enterobacterias (30-32), en *Vibrio cholerae* (33) e incluso en *Pseudomonas*.

En aislamientos clínicos, los **integrones clase 2** se encuentran en menor proporción que los integrones clase 1. Los mismos presentan una región 5'CS típica con las particularidades correspondientes a esta clase (*int2*, *att2*). La secuencia de aminoácidos de *Int2* presenta una identidad del 40% con *Int1* (34, 35). El gen *int2* es frecuentemente interrumpido prematuramente por un codón de terminación convirtiéndolo así en un pseudogen, lo que explicaría los escasos arreglos descritos en bases de datos, en comparación con el número de arreglos de los integrones clases 1 (36, 37). Sin embargo, recientemente se han descrito nuevos integrones clase 2 (en *P. stuartii* (38) y en *E. coli* (39)) donde se observa una sustitución en la base que originaba el codón de terminación temprano dentro de *int2*, demostrándose la funcionalidad de la integrasa. En la mayoría de los integrones clase 2 la zona 3'CS esta compuesta por 5 genes (*tnsA*, *tnsB*, *tnsC*, *tnsD* y *tnsE*) involucrados en la transposición del Tn7 y derivados (Figura 5b) (40, 41). Por lo que ya se ha argumentado, los arreglos de casetes dentro de la RV suelen ser más conservados siendo lo más frecuente de encontrar el arreglo detallado en el integrón presente en Tn7 en diferentes enterobacterias y otros aislamientos clínicos. El mismo posee el siguiente orden: *dfrA1* (que confiere resistencia a trimetoprima), *sat2* (que otorga resistencia a estreptotricina, un antibiótico muy empleado en la industria de alimentos y en veterinaria pero no en la clínica humana), *aadA1* (que codifica una enzima que otorga resistencia a espectinomicina y estreptomycinina) y finalmente un marco abierto de lectura, *orfX*, de función desconocida (37, 42).

Son pocos los reportes clínicos de **integrones clase 3** caracterizados en detalle y la mayoría están confinados al continente asiático. La secuencia de aminoácidos deducida para esta integrasa, muestra una identidad del 60,9 % con la integrasa IntI1. Los mismos poseen una localización plasmídica y no se conoce con precisión si comparten una región 3' conservada (43, 44).

Un determinado gen en casete no parece ser exclusivo para una clase de integrón estipulada; a modo de ejemplo el casete *bla_{IMP-1}*, originalmente encontrado en un integrón de clase 3, se halla actualmente descrito como parte de integrones de clase 1 (24, 43, 45, 46).



Figura 5: Diferentes clases de integrones de resistencia. Las regiones conservadas se marcan en colores y las regiones variables en grises. a- Integrón de clase 1, en verde se marca la región 5'CS y en naranja la región 3'CS. b- Integrón de clase 2, en rojo se marca la región 5'CS (el asterisco en *intI2** indica que es un pseudogen) y en azul la región 3'CS. Se respetó la región variable presente en el Tn7. Adaptado de Di Conza *et al.*, 2010 (18).

Superintegrones (SI)

Muchas otras clases de integrones fueron confinadas al cromosoma bacteriano y estaban asociadas a grandes arreglos de genes en casete aunque solo esporádicamente asociados a determinantes de resistencia. Inicialmente se describieron en *Vibrio* y posteriormente en muchos otros géneros bacterianos. Las siguientes características se han empleado para describir un SI: 1- una localización cromosómica, 2- muchos genes en casete asociados (donde uno de ellos puede contener más de 100 casetes), 3- un alto grado de identidad entre las secuencias *attC* de estos casetes (también denominados VCRs) y 4- una descendencia principalmente lineal entre un grupo determinado de microorganismos (21). El descubrimiento de los SI en diferentes géneros de proteobacterias ha impactado en la comprensión de la evolución del genoma bacteriano e incluso han generado hipótesis sobre su participación en la génesis de los actuales RI.

La mayoría de los ORFs identificados en integrones cromosómicos están más relacionados con funciones de virulencia u otras funciones que poco tienen que ver con resistencia a antimicrobianos, aunque se han descritos unos pocos casetes de resistencia como por ejemplo *bla_{CARB-7}* y *bla_{CARB-9}* (47). Por otro lado, también se ha visto que los *attC* de los casetes de RI, *bla_{p3}*, *dfrVI* y los recientemente descritos *qnrVC1* y *qnrVC2*, son idénticos a los VCRs de los genes en casete presentes en el SI de *Vibrio*. Estos hallazgos sugieren que existe un grupo de casetes disponibles o compartidos entre integrones de resistencia y superintegrones (48, 49).

CONCLUSIÓN

Los elementos genéticos móviles de presencia corriente en bacilos gram negativos -entre los que podemos destacar a los plásmidos, los transposones y el sistema integrón / gen en casete- desempeñan un papel fundamental en el reclutamiento y la dispersión de determinantes de resistencia incluso entre bacterias poco relacionadas filogenéticamente. Los integrones no son elementos capaces de autotransponerse, pero pueden asociarse con IS, transposones y/o plásmidos conjugativos que pueden servir como vehículos para la transmisión intra o entre especies del material genético.

Se debe destacar que estas plataformas genéticas no quedan restringidas sólo a aislamientos provenientes de diferentes nosocomios del área de la salud ya que han sido detectadas en aislamientos derivados de pacientes de la comunidad, de muestras procedentes de diferentes nichos ambientales, e incluso de animales de granja, zoológicos y mascotas. En resumen, debemos considerar a cada uno de estos ambientes microbianos como potenciales reservorio para la diseminación de genes de resistencia.

Si los genes de resistencia son parte de un elemento móvil transponible, pudiendo pasar de una molécula de ADN (cromosoma o plásmido) a otra, es posible que sea recogido por un plásmido. Si el plásmido es conjugativo o movilizable se forma una combinación eficaz para la diseminación de estos genes de resistencia que, sin duda, está favorecida por la fuerte presión selectiva que ejercen los antibióticos, no sólo en medicina, sino también en otras ramas como agricultura, ganadería y avicultura.

Que estos elementos genéticos se tornen cada vez más eficientes reclutando genes, y que a su vez se asocien con estructuras cada vez más promiscuas, son complicaciones que caben esperar. Así, la frecuente movilización en bloque de estos elementos asociados a resistencia contribuye activamente a la rápida emergencia y diseminación de microorganismos multirresistentes, y su estable permanencia en varios linajes bacterianos nos alerta sobre su posible selección empleando (o mal usando) un único agente antimicrobiano.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Levy SB. (1992) The antibiotic paradox. Plenum Press, N.Y. and London.
2. Roy PH. (1999) Horizontal transfer of genes in bacteria. *Microbiology Today*, pp. 168-170.
3. Couturier M, Bex F, Bergquist PL, Maas WK. (1988) Identification and Classification of Bacterial Plasmids. *Microbiological Reviews* **52**: 375-395.
4. Liebert CA, Hall RM, Summers AO. (1999) Transposon Tn21, flagship of the floating genome. *Microbiol Mol Biol Rev* **63**: 507-522.
5. Livermore DM. (1998) β -Lactamase-mediated resistance and opportunities for its control. *J. Antimicrob. Chemother.* **41**: 25-41.
6. Hallet B, Sherratt DJ. (1997) Transposition and site-specific recombination: adapting DNA cut-and-paste mechanisms to a variety of genetic rearrangements. *FEMS Microbiol. Rev.* **21**: 157-178.
7. Bennett PM. (2008) Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *Br J Pharmacol* **153 Suppl 1**: S347-357.
8. Craig NL. (1996) Transposition. In: Neighart FC (ed.) *Escherichia coli and Salmonella: cellular and molecular biology*. American Society for Microbiology., Washington DC., pp. 2239-2362.
9. Tan HM. (1999) Bacterial catabolic transposons. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **51**: 1-12.
10. Rowe-Magnus DA, Mazel D. (1999) Resistance gene capture. *Current Opinion in Microbiology* **2**: 483-488.
11. Lewin B. (2001) Transposones. In: Lewin B (ed.) *Gene VII, Séptima edición*. Marbán Libros, S.L., Madrid, España, pp. 457-484.
12. Lu F, Craig NL. (2000) Isolation and characterization of Tn7 transposase gain-of-function mutants: a model for transposase activation. *EMBO J* **19**: 3446-3457.
13. Sundstrom L, Roy PH, Skold O. (1991) Site-specific insertion of three structural gene cassettes in transposon Tn7. *J. Bacteriol.* **173**: 3025-3028.
14. Bennett PM. (1999) Integrations and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* **43**: 1-4.
15. Hall RM, Collis CM. (1995) Mobile gene cassettes and integrations: capture and spread of genes by site-specific recombination. *Molecular Microbiology* **15**: 593-600.
16. Boucher Y, Labbate M, Koenig JE, Stokes HW. (2007) Integrations: mobilizable platforms that promote genetic diversity in bacteria. *Trends Microbiol* **15**: 301-309.
17. Holmes AJ, Gillings MR, Nield BS, Mabbutt BC, Nevalainen KM, Stokes HW. (2003) The gene cassette metagenome is a basic resource for bacterial genome evolution. *Environ Microbiol* **5**: 383-394.
18. Di Conza JA, Gutkind GO. (2010) [Integrations: gene collectors]. *Rev Argent Microbiol* **42**: 63-78.
19. Fluit AC, Schmitz FJ. (2004) Resistance integrations and super-integrations. *Clin Microbiol Infect* **10**: 272-288.

20. Hall RM, Stokes HW. (2004) Integrons or super integrons? *Microbiology* **150**: 3-4.
21. Mazel D. (2006) Integrons: agents of bacterial evolution. *Nat Rev Microbiol* **4**: 608-620.
22. Bissonnette L, Roy. PH. (1992) Characterization of In0 of *Pseudomonas aeruginosa* plasmid pVS1, an ancestor of integrons of multiresistance plasmids and transposons of gram-negative bacteria. *Journal of Bacteriology*. **174**: 1248-1257.
23. Naas T, Mikami Y, Imai T, Poirel L, Nordmann. P. (2001) Characterization of In53, a class 1 plasmid- and composite transposon-located integron of *Escherichia coli* which carries an unusual arrays of gene cassettes. *Journal of Bacteriology*. **183**: 235-249.
24. Laraki N, Galleni M, Thamm I, et al. (1999) Structure of In31, a *bla*_{IMP}-containing *Pseudomonas aeruginosa* integron phyletically related to In5, which carries an unusual array of gene cassettes. *Antimicrob Agents Chemother* **43**: 890-901.
25. Levesque C, Piché L, Larose C, Roy. PH. (1995) PCR mapping of integron reveals several novel combinations of resistance genes. *Antimicrob Agents Chemother* **39**: 185-191.
26. Poirel L, Lambert T, Turkoglu S, Ronco E, Gaillard JL, Nordmann. P. (2001) Characterization of class 1 integrons from *Pseudomonas aeruginosa* that contain the *bla*_{VIM-2} carbapenem-hydrolyzing β -lactamase gene and of two novel aminoglycoside resistance gene cassettes. *Antimicrob. Agents Chemother*. **45**: 546-552.
27. Hall RM, Collis. CM. (1998) Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons. *Drug Resistance Updates*. **1**: 109-119.
28. Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. (2006) ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? *Microbiol Mol Biol Rev* **70**: 296-316.
29. Valentine CR, Heinrich MJ, Chisoe SL, Roe BA. (1994) DNA sequence of direct repeats of the *sulI* gene of plasmid pSa. *Plasmid*. **32**: 222-227.
30. Arduino SM, Roy PH, Jacoby GA, Orman BE, Pineiro SA, Centrón. D. (2002) *bla*_{CTX-M-2} is located in an unusual class 1 integron (In35) wich includes orf513. *Antimicrob. Agents Chemother*. **46**: 2303-2306.
31. Di Conza J, Ayala J, Power P, Mollerach M, Gutkind. G. (2002) Novel class 1 integron (InS21) carrying the *bla*_{CTX-M-2} gene in *Salmonella enterica* Serovar Infantis. *Antimicrob. Agents. Chemother*. **46**: 2257-2261.
32. Power P, Galleni M, Di Conza J, Ayala JA, Gutkind. G. (2005) Description of In116, the first *bla*_{CTX-M-2}-containing complex class 1 integron found in *Morganella morganii* isolates from Buenos Aires, Argentina. *J. Antimicrob. Chemother*. **55**: 461-465.
33. Soler Bistue AJ, Martin FA, Petroni A, et al. (2006) *Vibrio cholerae* InV117, a class 1 integron harboring *aac(6')-Ib* and *bla*_{CTX-M-2} is linked to transposition genes. *Antimicrob Agents Chemother* **50**: 1903-1907.
34. Recchia GD, Hall. RM. (1995) Gene cassettes: a new class of mobile element. *Microbiology* **141**: 3015-3027.
35. Radstrom P, Skold O, Swedberg G, Flensburg J, Roy PH, Sundstrom. L. (1994) Transposon Tn5090 of plasmid R751, which carries an integron, is related to Tn7, Mu, and the retroelements. *Journal of Bacteriology*. **176**: 3257-3268.
36. Crespo O, Catalano M, Pineiro S, Matteo M, Leanza A, Centron D. (2005) Tn7 distribution in *Helicobacter pylori*: a selective paradox. *Int J Antimicrob Agents* **25**: 341-344.
37. Dubois V, Parizano MP, Arpin C, Coulange L, Bezian MC, Quentin C. (2007) High genetic stability of integrons in clinical isolates of *Shigella* spp. of worldwide origin. *Antimicrob Agents Chemother* **51**: 1333-1340.
38. Barlow RS, Gobius KS. (2006) Diverse class 2 integrons in bacteria from beef cattle sources. *J Antimicrob Chemother* **58**: 1133-1138.
39. Marquez C, Labbate M, Ingold AJ, et al. (2008) Recovery of a functional class 2 integron from an *Escherichia coli* strain mediating a urinary tract infection. *Antimicrob Agents Chemother* **52**: 4153-4154.
40. Hansson K, Sundstrom L, Pelletier A, Roy. PH. (2002) IntI2 integron integrase in Tn7. *J. Bacteriol*. **184**: 1712-1721.
41. Heikkila E, Sundstrom L, Skurnik M, Huovinen P. (1991) Analysis of genetic localization of the type I trimethoprim resistance gene from *Escherichia coli* isolated in Finland. *Antimicrob Agents Chemother* **35**: 1562-1569.
42. Gassama-Sow A, Diallo MH, Boye CS, et al. (2006) Class 2 integron-associated antibiotic resistance in *Shigella sonnei* isolates in Dakar, Senegal. *Int J Antimicrob Agents* **27**: 267-270.
43. Arakawa Y, Murakami M, Suzuki K, et al. (1995) A novel integron-like element carrying the metallo- β -lactamase gene *bla*_{IMP}. *Antimicrob Agents Chemother* **39**: 1612-1615.
44. Correia M, Boavida F, Grosso F, et al. (2003) Molecular characterization of a new class 3 integron in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* **47**: 2838-2843.
45. Mendes RE, Castanheira M, Toleman MA, Sader HS, Jones RN, Walsh TR. (2007) Characterization of an integron carrying *bla*_{IMP-1} and a new aminoglycoside resistance gene, *aac(6')-31*, and its dissemination among genetically unrelated clinical isolates in a Brazilian hospital. *Antimicrob Agents Chemother* **51**: 2611-2614.
46. Penteado AP, Castanheira M, Pignatari AC, Guimaraes T, Mamizuka EM, Gales AC. (2009) Dissemination of *bla*(IMP-1)-carrying integron In86 among *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring a new trimethoprim resistance gene *dfr23*. *Diagn Microbiol Infect Dis* **63**: 87-91.

47. Saka HA, Sola C, Pasterán F, et al. (2007) Ampicillin resistance in *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 recovered in Córdoba, Argentina, is largely mediated by CARB-like beta-lactamases. In: AAM (ed.) *XI Congreso Argentino de Microbiología*. AAM, Córdoba, Argentina., p. 27.
48. Fonseca EL, Dos Santos Freitas F, Vieira VV, Vicente AC. (2008) New *qnr* gene cassettes associated with superintegron repeats in *Vibrio cholerae* O1. *Emerg Infect Dis* **14**: 1129-1131.
49. Rowe-Magnus DA, Guérout AM, Mazel D. (1999) Super-integrans. *Res. Microbiol.* **150**: 641-651.

MISTERIOS Y REALIDADES DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**Gabriela Beatriz Acosta***

*Instituto de Investigaciones Farmacológicas (ININFA) CONICET-UBA. Junín 956. 5º piso. C1113AAD. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina. E-mail: gacosta@ffyb.uba.ar

CONTENIDOS

RESUMEN	70
SUMMARY	71
1-INTRODUCCIÓN	71
2- DESARROLLO	72
2-1 HIPÓTESIS DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	72
a) PROTEÍNA ANÓMALA: PÉPTIDO β -AMILOIDE	72
b) PROTEÍNA ANÓMALA: TAU	73
c) FALLO DE LA SINAPSIS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	74
d) DEPLECIÓN DE NEUROTROFINA Y NEUROTRANSMISORES	75
e) DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL	75
f) ESTRÉS OXIDATIVO	76
2-2 TRATAMIENTO	76
2-3 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER FAMILIAR DE INICIO TEMPRANO.....	76
2-4 CAUSA Y PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	77
3. CONCLUSIONES	77
4- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

RESUMEN

En este artículo se presenta la complejidad de la enfermedad de Alzheimer (EA), cuya principal causa es la demencia entre los adultos mayores y está siendo estudiada firmemente para que en un futuro no muy lejano se desarrollen nuevos blancos terapéuticos en el tratamiento de la misma. Se desconoce su etiología, no es parte del proceso de envejecimiento normal, es la forma más común de demencia, es incurable y terminal, aparece con mayor frecuencia en personas mayores de 65 años de edad. Los mecanismos patológicos involucrados en ella son: la formación del péptido β -amiloide, la aparición de placas seniles, alteraciones en la proteína tau, la formación de ovillos neurofibrilares, la aparición de una cascada inflamatoria, el daño oxidativo neuronal, el mal funcionamiento sináptico y el agotamiento de neurotransmisores especialmente de acetilcolina. Varios de estos eventos son comunes a muchos trastornos neurodegenerativos progresivos. Las formas familiares secundarias de la enfermedad de Alzheimer, pueden ser mutaciones hereditarias que proporcionan una visión más amplia de los mecanismos moleculares implicados en la patogénesis de la enfermedad.

Las causas que subyacen a la EA así como su tratamiento se encuentran en estudio. Una serie de valiosas herramientas terapéuticas y de diagnóstico se están desarrollando actualmente. Los factores de riesgo para la EA son la edad, la predisposición genética, los factores ambientales, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y la dieta. En estos últimos años, la EA ha cobrado un relieve significativo, no sólo en el ámbito médico, sino también, en la comunidad en general. La EA tiene un curso devastador para el paciente y su familia, con un costo económico-social que aumenta en forma alarmante a medida que aumenta el porcentaje de la población geriátrica en la sociedad contemporánea.

Palabras claves: Proteína β -amiloide, muerte celular, ovillos neurofibrilares, placas neuríticas, daño oxidativo, neurodegeneración, pérdida de memoria, predisposición genética, biomarcadores, impacto social, Alzheimer.

MYSTERIES AND REALITIES OF ALZHEIMER'S DISEASE

SUMMARY

This article presents the complexity of Alzheimer's disease (AD) improves, the biological bases underlying its pathogenesis are gradually being disclosed, and we can expect that new therapeutic targets will emerge. It is characterized behaviorally by progressive memory loss and cognitive decline and physiologically by the presence of beta-amyloid peptide ($A\beta$ and neurofibrillary tangles) in the brain. The aim is to prevent or at least slow down the progression towards clinical impairment. The pathological mechanisms implicated the actions of β -amyloid, the accumulation of aggregates, the inflammatory cascade, oxidative neuronal damage, tau protein alterations and the formation of neurofibrillary tangle, synaptic failure and neurotransmitter depletion. Several of these events are common to many slowly progressive neurodegenerative disorders. The familial forms of Alzheimer's, secondary to inherited mutations have provided an insight into the molecular mechanisms implicated in disease pathogenesis.

The underlying cause of AD, as well as its treatment, is still under investigation. A number of valuable diagnostic tools have been developed and continue to be improved. Risk factors for AD include age, genetic predisposition, environmental factors, cardiovascular diseases, diabetes and diet.

Key words: Amyloid β -protein, cell death, neurofibrillary tangle, neuritic plaque, oxidative damage, neurodegeneration, memory loss, genetic predisposition, biomarkers, social impact, Alzheimer.

1-INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) fue descrita por primera vez por el neuropatólogo alemán Alois Alzheimer en 1906 (1, 2, 3). Es una enfermedad neurodegenerativa progresiva, que se manifiesta mediante el deterioro cognitivo y trastornos en la conducta. Se caracteriza por una pérdida progresiva de la memoria y de otras capacidades mentales. A medida que las células nerviosas mueren, las diferentes zonas del cerebro se van atrofiando.

La EA es la forma más común de demencia, no tiene cura y es terminal, aparece con mayor frecuencia en personas mayores de 65 años de edad.

La causa de la EA permanece aún desconocida. Las investigaciones suelen asociar a la EA con la aparición de placas seniles (depósitos extracelulares de beta-amiloide en la sustancia gris del cerebro y se asocian con la degeneración de las estructuras neuronales con abundante microglía y astrocitos) y de ovillos neurofibrilares (conglomerado anormal de proteínas compuesto por pequeñas fibrillas entrelazadas dentro de las neuronas). Los tratamientos actuales ofrecen beneficios moderados sintomáticos, pero no existe por el momento un tratamiento que detenga el progreso de la enfermedad. En este momento, la EA afecta al 10% de los individuos de más de 65 años de edad y más del 50% de las personas mayores de 80 años (4).

Aunque la EA se desarrolla de manera diferente para cada individuo, presentan muchos síntomas comunes (5). Los primeros síntomas se creen erróneamente que están "relacionados con la edad" (6). En las primeras etapas, el síntoma más común es la dificultad para "recordar los acontecimientos recientes". Cuando se sospecha de la existencia de EA, el diagnóstico se confirma con evaluaciones del comportamiento, del pensamiento y de las habilidades que a menudo son estudiadas mediante un escáner cerebral (7). No existe un tratamiento específico para esta enfermedad, empeora a medida que avanza con la edad y finalmente conduce a la muerte.

2- DESARROLLO

2-1 HIPÓTESIS DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

a) Proteína anómala: péptido β -amiloide

La enfermedad de Alzheimer ha sido definida como una enfermedad que desdobla las proteínas o “proteopatía”, debido a la acumulación de proteínas beta-amiloide $A\beta$ (A-beta o $A\beta$) y tau en el cerebro. Las placas neuríticas consisten en agregados de restos de axones y de dendritas de neuronas degeneradas, amalgamados con la proteína insoluble, beta-amiloide. Estas placas están constituidas por pequeños péptidos de 39 a 43 aminoácidos de longitud de $A\beta$ (8,9). El beta-amiloide es un fragmento que proviene de una proteína de mayor tamaño conocida como Proteína Precursora de Amiloide (PPA, por sus siglas en inglés). Esta proteína es indispensable para el crecimiento de las neuronas, para su supervivencia y la reparación post-daño. La formación del péptido $A\beta$ se forma por la escisión secuencial del PPA, siendo éste una glicoproteína transmembrana con una función indeterminada. El PPA puede ser procesado a partir de las enzimas α , β y γ -secretasas y un complejo de proteínas con el gen de la presenilina 1 (PSEN1), que catalizan un proceso de proteólisis. Uno de estos fragmentos es la fibra del beta-amiloide, el cual se agrupa y se deposita fuera de las neuronas en formaciones microscópicamente densas conocidas como placas seniles (10, 11,12).

En una minoría de pacientes, la enfermedad se produce por la aparición de mutaciones en los genes PSEN1, PSEN2 y en el gen de la PPA, localizado en el cromosoma 21. En este último caso la enfermedad aparece clásicamente en personas con el síndrome de Down (trisomía en el cromosoma 21), casi universalmente en los 40 años de vida y se transmite de padres a hijos (por lo que existen, habitualmente, antecedentes familiares de Alzheimer en los pacientes que desarrollan la enfermedad en edades precoces). Esta relación con el cromosoma 21 y la tan elevada frecuencia de aparición de la enfermedad en la trisomía de ese cromosoma, hacen que la teoría sea muy evidente (13, 14).

Un desequilibrio entre la producción, la limpieza y la agregación de péptidos, provoca que los péptidos $A\beta$ se acumulen y este exceso podría ser el factor desencadenante en el daño neuronal.

Se desconoce el mecanismo mediante el cual el péptido $A\beta$ produce daño celular. Se plantea la existencia de diversas maneras mediante las cuales podría dañar a las neuronas: activando la microglia (células del sistema inmune innato del SNC), activando la respuesta inflamatoria y liberación de citoquinas neurotóxicas y produciendo daño oxidativo en células vecinas, induciendo mecanismos de apoptosis, dificultando la perfusión (15,16) por la acumulación de amiloide en capilares y arteriolas y afectando los contactos sinápticos interneuronales. El péptido $A\beta$ también puede unir metales, lo cual induciría el cambio conformacional hacia sábana β -plegada, lo que resultaría en un aumento de su agregación.

El conjunto de acciones por el cual el beta-amiloide desencadena una cascada de reacciones bioquímicas observadas en la EA, se supone que es mecanismo tóxico para las neuronas, tal vez causado por una inflamación en el cerebro, generando radicales libres, o elevando el calcio intracelular a niveles dañinos y letales para la neurona. Incluso, se ha sugerido que el beta-amiloide podría activar los procesos de apoptosis celular, conduciendo a la neurona a su propia muerte (15,16).

En esta enfermedad los principales circuitos neuronales que se alteran estructuralmente son debido a la pérdida sináptica y a la muerte neuronal. Presenta una vulnerabilidad selectiva entre las neuronas, ya que éstas mueren debido a que no son resistentes a la neurodegeneración (17). La deposición de los ovillos neurofibrilares se originan en los lóbulos temporales mediales del hipocampo, la corteza transentorhinal y entorhinal, y la circunvolución del hipocampo, cuya función principal es sobre el aprendizaje y la memoria. En la EA leve se agrupan en la corteza cingulada temporal adyacente y a la posterior inferior. Finalmente se

extiende a la corteza parieto-temporal y el área prefrontal de la corteza de asociación, áreas que están relacionadas en el control de la percepción, la atención y el lenguaje (18, 19, 20).

Las técnicas de neuroimágenes ofrecen la oportunidad de seguir los cambios cerebrales relacionados con la EA *in vivo*, las cuales son necesarias para poseer una capacidad crítica en el diagnóstico precoz.

Se han observado importantes resultados con respecto a la pérdida neuronal en el cerebro, ya que se ve modificada su estructura y puede ser visualizado como una reducción del volumen (atrofia) mediante el uso de la resonancia magnética por imágenes (RMI) y en las anomalías funcionales, especialmente como alteraciones en la tasa metabólica de consumo de glucosa, determinado mediante el uso de tomografía por emisión de positrones (PET) utilizando 2-[¹⁸F] fluoro-2-desoxi-D-glucosa (FDG) como trazador. El PET-FDG tiene la capacidad de proporcionar estimaciones cuantitativas en la tasa metabólica cerebral local de la glucosa (21).

b) Proteína anómala: Tau

Las tau son proteínas microtubulares que abundan en las neuronas, siendo menos frecuentes fuera del SNC (22). Su principal función es la estabilización de los microtúbulos axonales a través de la interacción con la tubulina. De esta forma, la proteína tau ayuda a regular el tráfico de células nerviosas, lo que podría explicar que las alteraciones de esta proteína se asocien con las patologías de las enfermedades neurodegenerativas. Las proteínas asociadas al microtúbulo pueden regular espacialmente el equilibrio del transporte axonal dependiente del microtúbulo (23).

Los ovillos neurofibrilares están formados por filamentos helicoidales pareados, compuestos principalmente de la proteína asociada a microtúbulos -Tau- hiperfosforilada de manera anormal (24). Como se mencionó en el párrafo anterior, en las neuronas, Tau normalmente estabiliza los microtúbulos, siendo esencial para el transporte axonal y por ende, para la función neuronal (25). La agregación de Tau reduce su habilidad para estabilizar los microtúbulos, y llevaría eventualmente a la muerte neuronal (26). Su aparición es un evento relativamente temprano en la EA (27, 28).

La asociación mecanicista entre las placas seniles y los ovillos neurofibrilares se ha mantenido como una incógnita por muchos años, aunque existiría evidencia que el depósito de A β fibrilar induce la fosforilación de Tau seguida de la neurodegeneración progresiva de los procesos neuronales. Hoy se conoce que A β es capaz de activar a quinasas para fosforilar a Tau, tales como GSK3 β (glucógeno sintasa quinasa 3 beta) y CDK5 (quinasa dependiente de ciclina 5) (27, 28). Existe además, una actividad aumentada de CDK5 en varias enfermedades neurodegenerativas, incluida la EA y la inhibición farmacológica de CDK5 atenúa la neurotoxicidad de A β (11). Esta neurotoxicidad asocia a la activación mantenida de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) (27, 28, 29). En conjunto, estos resultados indican que Tau tiene un papel clave en la generación de neuritas distróficas en respuesta al A β (11). Recientemente, se demostró que la presencia de Tau es esencial para la neurotoxicidad inducida por el péptido A β , de tal manera que, en animales transgénicos sin Tau, las neuronas hipocampales no degeneraban cuando eran tratadas con A β , mientras la neurotoxicidad era restaurada al re-expresar Tau (10, 11).

En la EA, los cambios en la proteína tau producen la desintegración de los microtúbulos en las células cerebrales. No se ha explicado por completo cómo la producción y agregación de los péptidos A β presentan una función en la EA. La fórmula tradicional de la hipótesis amiloide apunta a la acumulación de los péptidos A β como el evento principal que conlleva la degeneración neuronal. La acumulación de las fibras amiloides parecería ser la forma anómala de la proteína responsable de la perturbación de la homeostasis del ion calcio intracelular que induce a la muerte celular programada, llamada apoptosis. Se sabe también, que la A β se acumula selectivamente en las mitocondrias de las células cerebrales afectadas en el Alzheimer y que es capaz de inhibir ciertas funciones enzimáticas, así como alterar la utilización de la glucosa por las neuronas (24, 28, 29).

Varios mecanismos inflamatorios junto con la intervención de las citoquinas pueden también participar en la patología de la EA. La inflamación es el marcador general de daño en los tejidos en cualquier enfermedad y puede ser secundario al daño producido por el EA, o bien, la expresión de una respuesta inmunológica (22, 23,26).

Los ovillos neurofibrilares son inclusiones filamentosas en las neuronas piramidales, que se producen en la EA y en otros desórdenes neurodegenerativos denominados tauopatía (22). El número de ovillos neurofibrilares es un marcador de la gravedad patológica de la EA. El componente principal de los ovillos es una forma anormalmente hiperfosforilada y agregados de tau. Normalmente, es una proteína soluble abundante en los axones, la tau promueve el montaje y la firmeza de los microtúbulos y de las vesículas de transporte. La tau hiperfosforilada es insoluble, carece de afinidad por los microtúbulos y está asociada en las estructuras de filamentos helicoidales apareados. Las enzimas que añaden y eliminan los residuos de fosfato son los que regulan el nivel de fosforilación de tau (30).

Se ha demostrado que la pérdida del volumen cerebral detectado por resonancia magnética está relacionada tanto con el grado de la patología de los ovillos neurofibrilares como con la magnitud de la pérdida neuronal (31, 32). La patología de la EA se sabe que tiene el efecto general de la interrupción del transporte axonal y la disminución metabólica.

La apolipoproteína E (ApoE) alelo E4 (APOE4), es el principal factor de riesgo genético para la EA, ya que conduce a una acumulación en exceso de proteínas A β - amiloide en el cerebro (33, 34).

Se ha demostrado en ratones transgénicos que expresan una forma mutante del gen PPA humano, los mismos desarrollan placas amiloides fibrilares y presentan déficit en el aprendizaje espacial (35, 36).

Un enfoque epidemiológico consiste en examinar los individuos de familias con EA de inicio precoz. Las familias con inicio precoz se caracterizan por herencia autosómica dominante a una edad específica (37, 38, 40).

c) Fallo de la sinapsis en la enfermedad de Alzheimer.

La EA puede ser principalmente un trastorno en la transmisión sináptica colinérgica (40). La hipótesis colinérgica propone que la EA es causada por una disminución en la síntesis del neurotransmisor acetilcolina (ACh). La deficiencia de proyecciones colinérgicas en la enfermedad de Alzheimer se ha vinculado a la acumulación de A β y Tau. Los receptores nicotínicos de ACh son esenciales para los procesos de aprendizaje y cognitivos; en la EA sus niveles aumentan precozmente, antes de que se produzca la disminución posterior. Los estudios experimentales muestran que A β de los receptores nicotínicos α -7 se unen a los receptores nicotínicos de acetilcolina, lo que afecta la liberación de ACh y el mantenimiento de la potenciación a largo plazo. En los cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer el nivel de receptores muscarínicos de ACh o el acoplamiento de los receptores se reducen. La estimulación farmacológica de los receptores muscarínicos de acetilcolina tipo 1 (M1) activa la proteincinasa C, favoreciendo el procesamiento de la proteína precursora del amiloide que no produce amiloide. Por otra parte, la activación de los receptores nicotínicos de acetilcolina o los receptores M1 limitan la fosforilación de Tau. A pesar de que los inhibidores de la colinesterasa mejoran la neurotransmisión y proporcionan un alivio paliativo leve de la enfermedad, éstos pierden eficacia con el tiempo. El uso de agonistas y moduladores de los receptores nicotínicos de acetilcolina α -7 está bajo investigación. Los estudios clínicos de los agonistas selectivos M1 han mostrado mejoras en la cognición y una reducción de los niveles de A β en el líquido cefalorraquídeo, pero son tóxicos (41).

La reducción en la actividad de las neuronas colinérgicas es una característica bien conocida en la enfermedad de Alzheimer (42). Los inhibidores de la acetilcolinesterasa se emplean para reducir la velocidad a

la que la ACh se descompone, lo que aumenta la concentración de ACh en el cerebro y la lucha contra la pérdida de ACh causados por la muerte de las neuronas colinérgicas. Los inhibidores de la colinesterasa aprobados para el tratamiento de los síntomas del EA son el donepezil, galantamina y la rivastigmina. Existen pruebas de la eficacia de estos medicamentos en enfermedad de Alzheimer leve a moderada y algunos análisis para su uso en la etapa avanzada (43). Sólo donepezil está aprobado para el tratamiento de la demencia avanzada. El uso de estos fármacos en el deterioro cognitivo leve no ha demostrado ningún efecto en el retraso de la aparición de la EA. Los efectos secundarios más comunes son náuseas y vómitos. Estos efectos secundarios se presentan en aproximadamente entre el 10 al 20% de los pacientes y son de leves a moderados. Los efectos secundarios menos comunes incluyen calambres musculares, disminución de la frecuencia cardíaca (bradicardia), disminución del apetito y el peso, y el aumento de la producción de ácido clorhídrico gástrico (44, 45).

El glutamato (Glu) es el más importante NT excitatorio en el SNC, aunque en cantidades excesivas en la hendidura sináptica puede conducir a la muerte celular a través de un proceso llamado excitotoxicidad, La misma se produce no sólo en la enfermedad de Alzheimer, sino también en otras enfermedades neurológicas como la enfermedad de Parkinson y la esclerosis múltiple (46). La memantina (47) es un antagonista del receptor NMDA no competitivo utilizado por primera vez como un agente anti-influenza. Actúa sobre el sistema glutamatérgico mediante el bloqueo de los receptores de NMDA y la inhibición de su sobre-estimulación por Glu (48). La memantina se ha demostrado que es moderadamente eficaz en el tratamiento de la EA moderada a severa. Sus efectos en las etapas iniciales de la EA son desconocidos. Se ha informado que los efectos adversos con memantina son infrecuentes o leves, incluyendo alucinaciones, confusión, mareos, dolor de cabeza o fatiga (49). La combinación de memantina y donepezilo se ha señalado que puede tener una "eficacia estadísticamente significativa pero clínicamente marginal" (50).

d) Depleción de neurotrofina y neurotransmisores

Las neurotrofinas promueven la proliferación, la diferenciación y la supervivencia de las neuronas y de las células gliales que intervienen en el aprendizaje, la memoria y la conducta (11). En la última etapa de la enfermedad de Alzheimer, los niveles elevados de receptores de neurotrofinas en las neuronas colinérgicas del prosencéfalo basal están reducidos. La inyección del factor de crecimiento nervioso (BDN, según su sigla en inglés) puede rescatar neuronas basales en modelos animales. Por otro lado, un ensayo en fase 1 sobre el tratamiento con el gen de BDN en la enfermedad de Alzheimer mostró una mejoría en la cognición y en el metabolismo cerebral. En la EA con un deterioro cognitivo leve, los niveles del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), un miembro de la familia de las neurotrofinas, están deprimidos, un hallazgo reproducido experimentalmente con oligómeros A β_{42} . El tratamiento con BDNF en roedores y primates no humanos ayudan en la supervivencia neuronal, la función sináptica y la memoria, lo que sugiere que la sustitución del BDNF es otra opción para el tratamiento de la EA (11).

e) Disfunción mitocondrial

El A β mitocondrial es un tóxico potente, que afecta especialmente al conjunto de las sinapsis. En la EA la exposición al A β inhibe las enzimas mitocondriales esenciales del cerebro y de las mitocondrias aisladas. La citocromo c oxidasa es atacada en forma particular (10). Por consiguiente, el transporte de electrones, la producción de ATP, el consumo de oxígeno y el potencial de membrana se deterioran. El aumento de los radicales superóxido mitocondriales y la transformación en peróxido de hidrógeno causan estrés oxidativo, liberación de citocromo c y apoptosis. La acumulación de A β en las mitocondrias dañadas aisladas de los cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer y los cerebros transgénicos coincide con otras evidencias de A β intraneuronal en la EA (10, 11).

f) Estrés oxidativo

En la EA y en el envejecimiento normal del cerebro, la liberación de mitocondrias disfuncionales con oxidación de radicales libres produce lo que se conoce como estrés oxidativo (51, 52). Los modelos experimentales demuestran que los marcadores del daño oxidativo preceden a los cambios anatómo-patológicos. El A β , un potente generador de especies de oxígeno y nitrógeno reactivas, es el principal iniciador de este daño. Los receptores de los productos de la glicosilación avanzada median el efecto pro-oxidante A β sobre las células nerviosas y la microglia. El peróxido de hidrógeno mitocondrial se difunde con facilidad en el citosol para participar en la formación de radicales hidroxilo catalizados por iones de metal. La microglia estimulada es una fuente importante del radical óxido nítrico muy difusible. Estas especies reactivas de oxígeno y nitrógeno son dañinas para varias moléculas. La peroxidación de los lípidos de la membrana genera aldehídos tóxicos que perjudican a las enzimas mitocondriales más importantes. Otras proteínas esenciales son directamente oxidadas, obteniéndose derivados de carbonilo y nitratos. Posteriormente, el aumento de la permeabilidad al calcio de la membrana y otros desequilibrios iónicos del transporte de glucosa agravan el desequilibrio energético (51, 52).

2-2 TRATAMIENTO

Actualmente se está experimentando con una nueva vacuna preventiva contra la EA. Estos estudios están basados en la idea de que el sistema inmune puede ser entrenado para reconocer y atacar la placa β -amiloide, lo cual podría revertir la deposición del mismo. Los resultados iniciales en animales de experimentación fueron prometedores. Sin embargo, cuando las primeras vacunas se probaron en seres humanos en el año 2002, produjeron inflamación cerebral, concretamente meningoencefalitis, en una pequeña proporción de los participantes en el estudio, por lo que se detuvieron las pruebas (53). Se continuó estudiando a los participantes y se observó una mejora en lo que respecta a la lentitud del progreso de la enfermedad. Recientemente se ha descubierto que la inflamación cerebral estaba producida por una serie de péptidos que se incluían con la vacuna AN-179, por lo que se está investigando la creación de una vacuna que no esté presente dichos péptidos en su composición (53). Una revisión sistemática de los ensayos clínicos hasta ahora desarrollados muestra resultados esperanzadores.

En el campo de la prevención y educación en salud, se considera que un estilo de vida saludable, la práctica regular de algún tipo de actividad física y una dieta equilibrada, podrían prevenir la aparición de muchas enfermedades.

2-3 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER FAMILIAR DE INICIO TEMPRANO

La Enfermedad de Alzheimer de inicio tardío y esporádico muestra una patología prácticamente idéntica a la EA de inicio temprano familiar, lo que sugiere que existen vías comunes para ambas formas de la enfermedad.

Hasta la fecha, los estudios genéticos han revelado cuatro genes que pueden estar vinculados a la EA autosómica dominante de inicio temprano o familiar. Estos cuatro genes incluyen: proteína precursora de amiloide (APP), presenilina 1 (PS1), presenilina 2 (PS2) y apolipoproteína E (ApoE). Todas las mutaciones asociadas con PPA y las proteínas PS pueden conducir a un aumento en la producción de péptidos A β , específicamente la forma más amiloidogénica A β 42. Además de las influencias genéticas sobre la placa amiloide y la formación de ovillos intracelulares, los factores ambientales podrían desempeñar una función importante en el desarrollo y la progresión de la EA (54, 55).

Actualmente se han descubierto vías moleculares claves en el funcionamiento dentro de las células cerebrales, que parecen alterarse ante la presencia de la APOE4 (56). Los investigadores estudiaron cambios en la expresión de 215 genes entre los portadores y de los no portadores de la APOE4. De éstos, identificaron a

20 que parecían ser los "reguladores maestros" de procesos claves dentro de las células. Al menos dos de éstos (el SV2A y el RNF219) parecen cambiar la forma en que trabajan dependiendo del tipo de apolipoproteína E con que se encuentran dentro de las células (56).

2-4 CAUSA Y PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La causa y la progresión de la enfermedad de Alzheimer aún no se conocen detalladamente. Las investigaciones realizadas hasta el momento indican que la EA se asocia con las placas amiloides y ovillos neurofibrilares en el cerebro (7,8). Los tratamientos actuales sólo ayudan a paliar los síntomas de la enfermedad. No existen tratamientos para detener o revertir la progresión de la enfermedad. Se necesita más estudios sobre las formas de prevenir la enfermedad de Alzheimer. Hasta el momento más de 1.000 ensayos clínicos han sido realizados y otros tantos se están llevando a cabo para encontrar diferentes formas de tratar la enfermedad, pero se desconoce aún si alguno de estos tratamientos funciona.

Mantener una mente activa, una dieta saludable, actividad física y tener una vida social intensa fueron identificados como factores potenciales de protección en la mediana edad que pueden ayudar a mantener la reserva cognitiva en la vida adulta. Controles de presión arterial, colesterol y lipoproteínas, glucosa en sangre, ácido fólico, vitamina B12 y el peso son vitales, además de no fumar. Todo este conjunto de medidas preventivas puede ayudar a retrasar los síntomas cognitivos (aunque no la patología del cerebro) en las personas mayores sanas, pero no existen pruebas concluyentes de esto.

3. CONCLUSIONES

En este artículo hemos comentado varios mecanismos de daño que están presentes en la EA, varios de ellos además serían comunes a diversas patologías neurodegenerativas. Así, la EA probablemente corresponde a un proceso de múltiples etapas que incluye eventos ambientales, epigenéticos y genéticos, lo que concuerda con las evidencias clínico-epidemiológicas y experimentales (57, 60). La contribución relativa en la EA de cada uno de los mecanismos expuestos es probablemente diferente para distintos individuos. La EA parece asociarse a un fenotipo pro-inflamatorio, con aumento de la reactividad glial y de la actividad citotóxica en el SNC. La disminución de la agregación proteica, del estrés oxidativo, el daño mitocondrial, la respuesta inflamatoria y la acumulación de metales pesados (51, 52), como también el re-establecimiento de la neurotransmisión y bloquear la excitotoxicidad son aproximaciones terapéuticas experimentales hoy día, pero que pueden demostrar ser beneficiosas como tratamiento el día de mañana. Tanto las neuropatologías como los estudios por imagen convergen en observaciones de los eventos patológicos implicados en la EA que ocurren temprano en el curso de la enfermedad y preceden a los síntomas clínicos. Por otra parte, la progresión de la patología de la EA en el cerebro se puede seguir utilizando las técnicas de neuroimágenes (57). En los últimos años, numerosos estudios han demostrado que la atrofia cerebral y el hipometabolismo en las regiones clave del cerebro pueden distinguir con precisión la EA del envejecimiento normal y de otras demencias. Asimismo, se está investigando como evitar o disolver los cúmulos de proteínas neurotóxicas, por ejemplo, se está investigando obtener una vacuna para la enfermedad de Alzheimer que impida la acumulación de la proteína beta-amiloide (58, 59). Por último, la terapia génica ofrecerá la posibilidad de reemplazar los genes defectuosos que dan lugar a las enfermedades hereditarias (60). De este modo se conseguiría que las proteínas que sintetizan los pacientes enfermos vuelvan a ser normales con lo que se podría evitar la neurodegeneración.

Existe toda una serie de líneas de investigación para prevenir, enlentecer o frenar la neurodegeneración cuyos resultados prácticos es probable que estén disponibles a medio plazo. Pero además la investigación sobre células madre abre la esperanza de poder restituir las neuronas perdidas y conseguir que los síntomas desaparezcan: se trataría de trasplantar células que reemplazarían a las neuronas perdidas. El

trasplante de células madre resulta, desde un punto de vista teórico, una posibilidad muy atractiva para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. En todo caso, la investigación con células madre no ha hecho sino empezar y es posible que las posibilidades de este tipo de tratamiento superen en la práctica nuestras expectativas actuales optimistas (60).

En resumen; proteger las neuronas intactas es un objetivo más importante que reparar las neuronas ya dañadas. Retrasar la aparición de la enfermedad de Alzheimer es un paso importante. Actualmente contamos con buena evidencia a partir de investigaciones científicas que muestran que adoptando un estilo de vida "cerebro saludable", se puede reducir el riesgo de desarrollar deterioro cognitivo

4- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cohen G (1990). Age differences in memory for texts: production deficiency or processing limitations? L. Light, D. Burke (Eds.), *Language, Memory and Aging*, Cambridge University Press, New York, pp. 171–190.
2. Convit A, de León MJ, Tarshish C, De Santi S, Kluger A, Rusinek H, George AE (1995). Hippocampal volume losses in minimally impaired elderly. *Lancet* 345: 266
3. Convit A, de Asis J, de Leon MJ, Tarshish CY, De Santi S, Rusinek H (2000). Atrophy of the medial occipito-temporal, inferior, and middle temporal gyri in non-demented elderly predict decline to Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 21: 19–26
4. Brookmeyer, S. Gray C, Kawas C (1998) Projections of Alzheimer's disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. *Am. J. Public Health* 88:1337–1342
5. Waldemar G (2007). Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia: EFNS guideline. *Eur J Neurol.* 14(1):1–26.
6. Tabert MH, Liu X, Doty RL, Serby M, Zamora D, Pelton GH, Marder K, Albers MW, Stern Y, Devanand DP (2005). A 10-item smell identification scale related to risk for Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* 58(1):155–160
7. Tiraboschi P, Hansen LA, Thal LJ, Corey-Bloom J (2004). The importance of neuritic plaques and tangles to the development and evolution of AD. *Neurology.* 62(11):1984-1989.
8. Glenner GG, Wong CW (1984) Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 120(3):885-890
9. Glenner GG, Wong CW (1984) Alzheimer's disease and Down's syndrome: Sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 122(3):1131-1135.
10. Hashimoto M, Rockenstein E, Crews L, Masliah E (2003). Role of protein aggregation in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Neuromolecular Med.* 4: 21–36
11. Querfurth HW, La Ferla FM (2010). Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* 362: 329- 344
12. Wildsmith KR, Holley M, Savage JC, Skerrett R, Landreth GE (2013). Evidence for impaired amyloid β clearance in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 5(4):33.
13. Lott IT, Head E (2005). Alzheimer disease and Down syndrome: factors in pathogenesis. *Neurobiol. Aging* 26 (3): 383–389
14. Nistor M, Don M, Parekh M, Sarsoza F, Goodus M, Lopez GE, Kawas C, Leverenz J, Doran E, Lott IT, Hill M, Head E. (2007). Alpha- and beta-secretase activity as a function of age and beta-amyloid in Down syndrome and normal brain. *Neurobiol. Aging* 28 (10): 1493–1506
15. De la Torre JC (2000). Cerebral hypoperfusion, capillary degeneration, and development of Alzheimer's disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 14: S72-81
16. Morrison JH, Hof PR (1997). Life and death of neurons in the aging brain. *Science* 278 (5337):412-419
18. Braak E (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 82: 239–259
19. Braak E (1996). Development of Alzheimer-related neurofibrillary changes in the neocortex inversely recapitulates cortical myelogenesis. *Acta Neuropathol.* 92:197–201

20. Delacourte A, David JP, Sergeant N, Buée L, Wattez A, Vermersch P, Ghazali F, Fallet-Bianco C, Pasquier F, Lebert F, Petit H, Di Menza C. (1999). The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 52: 1158–1165
21. de León MJ, Convit A, Wolf OT, Tarshish CY, DeSanti S, Rusinek H, Tsui W, Kandil E, Scherer AJ, Roche A, Imossi A, Thorn E, Bobinski M, Caraos C, Lesbre P, Schlyer D, Poirier J, Reisberg B, Fowler J. (2001). Prediction of cognitive decline in normal elderly subjects with 2-[18F] fluoro-2-deoxy-d-glucose/positron-emission tomography (FDG/PET). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 10966–10971
22. Lee VM, Goedert M, Trojanowski JQ (2001) Neurodegenerative tauopathies. *Annu Rev Neurosci.* 24:1121-1159.
23. Lee VM, Brunden KR, Hutton M, Trojanowski JQ (2011) Developing therapeutic approaches to tau, selected kinases, and related neuronal protein targets. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 1(1):a006437
24. Chun W, Johnson GV (2007). The role of tau phosphorylation and cleavage in neuronal cell death. *Front. Biosci.* 12: 733–56
25. Paglini G, Peris L, Mascotti F, Quiroga S, Cáceres A (2000) Tau protein function in axonal formation. *Neurochem Res* 25: 37-42
26. Billingsley ML, Kincaid RL (1997). Regulated phosphorylation and dephosphorylation of tau protein: effects on microtubule interaction, intracellular trafficking and neurodegeneration. *Biochem J* 323: 577-591
27. Lovestone S, Reynolds CH (1997). The phosphorylation of tau: a critical stage in neurodevelopmental and neurodegenerative processes. *Neuroscience*; 78: 309-324
28. Mudher A, Lovestone S (2002). Alzheimer's disease-do tauists and baptists finally shake hands? *Trends Neurosci.* 25 (1): 22–26
29. Chen X, Yan SD (2006). Mitochondrial Abeta: a potential cause of metabolic dysfunction in Alzheimer's disease. *IUBMB Life* 58 (12): 686–94.
30. Riederer BM, Leuba G, Elhajj Z (2013). Oxidation and ubiquitination in neurodegeneration. *Exp Biol Med* 238 (5):519-524
31. Bobinski M, de León MJ, Convit A, De Santi S, Wegiel J, Tarshish CY, Saint Louis LA, Wisniewski HM (1999). MRI of entorhinal cortex in mild Alzheimer's disease. *Lancet* 353(9146):38-40.
32. Bobinski M, de León MJ, Wegiel J, Desanti S, Convit A, Saint Louis LA, Rusinek H, Wisniewski HM (2000). The histological validation of post mortem magnetic resonance imaging-determined hippocampal volume in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 95: 721–725.
33. Polvikoski T (1995) Apolipoprotein E, dementia, and cortical deposition of beta-amyloid protein. *N Engl J Med.* 333(19):1242–1247
34. Cramer PE, Cirrito JR, Wesson DW, Lee CY, Karlo JC, Zinn AE, Casali BT, Restivo JL, Goebel WD, James MJ, Brunden KR, Wilson DA, Landreth GE (2012). ApoE-directed therapeutics rapidly clear β -amyloid and reverse deficits in AD mouse models. *Science* 335(6075):1503-1506.
35. Hsiao K (1996). Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 274(5284):99–102
36. Lalonde R, Dumont M, Staufenbiel M, Sturchler-Pierrat C, Strazielle C. (2002). Spatial learning, exploration, anxiety, and motor coordination in female APP23 transgenic mice with the Swedish mutation. *Brain Research* 956(1):36–44
37. Tanzi RE, Bertram L (2001). New frontiers in Alzheimer's disease genetics. *Neuron* 32(2):181-184.
38. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 Allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261: 921–923
39. Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, Eckman C, Harigaya Y, YOUNKIN S, Yang F, Cole G. (1996). Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 274 (5284): 99–102.
40. Shen ZX (2004). Brain cholinesterases: II. The molecular and cellular basis of Alzheimer's disease. *Med. Hypotheses* 63 (2): 308–321.
41. Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, Kaye R, Metherate R, Mattson MP, Akbari Y, LaFerla FM. (2003) Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron* 39(3):409-421.
42. Raschetti R, Albanese E, Vanacore N, Maggini M (2007). Cholinesterase inhibitors in mild cognitive impairment: a systematic review of randomised trials. *PLoS Med* 4 (11): 338.

43. Camberg L, Woods P, Ooi WL, Hurley A, Volicer L, Ashley J, Odenheimer G, McIntyre K. (1999). Evaluation of Simulated Presence: a personalised approach to enhance well-being in persons with Alzheimer's disease». *J Am Geriatr Soc* 47 (4): 446–452.
44. Spector A, Thorgrimsen L, Woods B, Royan L, Davies S, Butterworth M, Orrell M (2003). Efficacy of an evidence-based cognitive stimulation therapy programme for people with dementia: randomised controlled trial. *Br J Psychiatry* 183: 248-54.
45. Wenk GL (2003). Neuropathologic changes in Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry* 64, Suppl 9: 7–10.
46. Lipton SA (2006). Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: memantine and beyond. *Nat Rev Drug Discov* 5 (2): 160–170.
47. Gitlin LN, Hauck WW, Dennis MP, Winter L (2005). Maintenance of effects of the home environmental skill-building program for family caregivers and individuals with Alzheimer's disease and related disorders. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 60 : 368–74
48. Gitlin LN, Corcoran M, Winter L, Boyce A, Hauck WW (2001). A randomized, controlled trial of a home environmental intervention: effect on efficacy and upset in caregivers and on daily function of persons with dementia». *Gerontologist* 41 (1): 4–14.
49. Dunne TE, Nearing SA, Cipolloni PB, Cronin-Golomb A (2004). Visual contrast enhances food and liquid intake in advanced Alzheimer's disease. *Clinical Nutrition* 23 (4): 533–538.
50. Dudek SG (2007). *Nutrition essentials for nursing practice*. Hagerstown, Maryland: Lippincott Williams & Wilkins(Editors) pp. 360.
51. Beal MF (1995). Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann Neurol* 38: 357-366
52. Markesbery WR. (1999). The role of oxidative stress in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 56:, 1449-1452
53. Orgogozo JM, Gilman S, Dartigues JF, Laurent B, Puel M, Kirby LC, Jouanny P, Dubois B, Eisner L, Flitman S, Michel BF, Boada M, Frank A, Hock C (2003). Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta42 immunization. *Neurology* 61(1):46-54.
54. Priller C, Bauer T, Mitteregger G, Krebs B, Kretschmar HA, Herms J (2006). Synapse formation and function is modulated by the amyloid precursor protein. *J. Neurosci.* 26: 7212–7221.
55. Turner PR, O'Connor K, Tate WP, Abraham WC (2003). Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory. *Prog. Neurobiol.* 70(1):1-32.
56. Rhinn H, Fujita R, Qiang L, Cheng R, Lee JH, Abeliovich A (2013). Integrative genomics identifies APOE ε4 effectors in Alzheimer's disease. *Nature* 500 (7460):45-50
57. DeKosky ST (2003). Pathology and pathways of Alzheimer's disease with an update on new developments in treatment. *J Am Geriatr Soc* 51: S314-S320
58. Janus C, Pearson J, McLaurin J, Mathews PM, Jiang Y, Schmidt SD, et al. (2000). A beta peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature* 408: 979-982
59. Morgan D, Diamond DM, Gottschall PE (2000). A beta peptide vaccination prevents memory loss in a model of Alzheimer's disease. *Nature* 408: 982-985
60. Veeraraghavalu K, Sisodia SS (2013). Mutant presenilin 1 expression in excitatory neurons impairs enrichment-mediated phenotypes of adult hippocampal progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110(22): 9148-53

DEFICIENCIA DE COENZIMA Q10: ¿UNA ENFERMEDAD HUÉRFANA EN ARGENTINA?

Silvia Lucangioli^{1,2} y Valeria Tripodi^{1,2,3} *

¹Centro de Investigación, Desarrollo y Control Farmacéutico (CIDECE), Departamento de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

²Consejo Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICET)

³Miembro del International Coenzyme Q₁₀ Association (ICQA)

* Autor correspondiente: vtripodi@ffyb.uba.ar

Tabla de contenidos:

RESUMEN	81
SUMMARY	81
INTRODUCCIÓN	82
DIAGNÓSTICO DE LA DEFICIENCIA DE COQ10	82
TERAPÉUTICA	83
TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS DERIVADOS DE COQ10	84
INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS	84
SITUACIÓN ACTUAL EN ARGENTINA	84
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	85
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

RESUMEN

En la actualidad, el estudio de la coenzima Q10 (CoQ10) representa un área de vacancia en Argentina. La CoQ10 es fundamental para la producción celular de energía y es considerada un potente antioxidante endógeno. Su deficiencia se asocia a diversas patologías que revierten parcial o totalmente con la suplementación terapéutica de CoQ10, especialmente si es administrada en niños. Sin embargo, en Argentina, la CoQ10 es considerada un suplemento dietario y para el tratamiento sólo se encuentra disponible comercialmente una formulación sólida que no sólo posee baja biodisponibilidad sino que además es inadecuada para su uso pediátrico, resultando en una pobre o inexistente respuesta terapéutica. Un mayor conocimiento de las patologías que involucran la deficiencia de CoQ10 facilitaría al equipo de salud el manejo de estas enfermedades que actualmente se conocen como “huérfanas” en Argentina.

Palabras clave: Coenzima Q10, Ubiquinona, enfermedad huérfana, formulación huérfana.

COENZYME Q10 DEFICIENCY: AN ORPHAN DISEASE IN ARGENTINA?

SUMMARY

At present the study of coenzyme Q10 (CoQ10) is a large vacant area in Argentina. CoQ10 is essential for cellular energy production and is considered a potent endogenous antioxidant. Its deficiency is associated to different pathologies that partially or completely reversed with the therapeutic

supplementation of CoQ10, particularly if it is administered in children. However, in Argentina, CoQ10 is considered a dietary supplement and for treatment is only available a solid formulation that not only has low bioavailability but also is unsuitable for pediatric use, resulting in poor or no therapeutic response. A greater understanding of diseases involving CoQ10 deficiency would facilitate the health team management of this disease that today are known as "orphan" in Argentina.

Keywords: Coenzyme Q10, ubiquinone, orphan disease, orphan product.

INTRODUCCIÓN

La coenzima Q10 (CoQ10) es un compuesto endógeno que se encuentra en todas las células de nuestro organismo. Dado su carácter ubicuo y su estructura de quinona, la CoQ10 también es conocida como ubiquinona. Inserta en las membranas celulares y con posibilidad de moverse a través de ellas, esta quinona es particularmente reconocida por su rol vital en el transporte electrónico de la cadena respiratoria mitocondrial favoreciendo la producción de ATP. La CoQ10, además, actúa como un potente antioxidante en la prevención del daño oxidativo del ADN, membranas biológicas y lipoproteínas (1, 2) y regenera a otros antioxidantes como la vitamina E, por lo que es asociada a numerosos procesos de estrés oxidativo.

La CoQ10 es sintetizada como producto terminal de la vía del mevalonato (3) y, además de su producción endógena, es incorporada a través de la dieta dado que algunos vegetales (perejil, ajo, brócoli, coliflor, repollo), aceites (oliva, soja, maní, girasol), carnes (de vaca, pollo y cerdo) y ciertos mariscos y pescados (caballa, atún, salmón, pulpo) presentan altos contenidos de CoQ10 (4). Sin embargo, sólo un pequeño porcentaje de la CoQ10 contenida en los alimentos es absorbida por esta vía. Es por ello que los niveles endógenos de CoQ10 están determinados principalmente por su tasa de producción *de novo* vs consumo y, en menor medida, por el aporte exógeno.

La deficiencia de CoQ10 puede ser clasificada como primaria o secundaria. La primera, relativamente menos frecuente, ha sido asociada a mutaciones autosómicas recesivas de diversos genes involucrados en su biosíntesis ocasionando enfermedades neuromusculares, mitocondriales y degenerativas con una grave presentación clínica que involucra degeneración motriz progresiva, pérdida de la memoria, dificultad en la deglución y diferentes grados de retraso mental.

Las deficiencias secundarias, por el contrario, de mayor prevalencia, resultan de presentación clínica más leve asociándose a diversas patologías como fibromialgia, enfermedad cardiovascular, enfermedades neurodegenerativas, cáncer, diabetes, infertilidad masculina, embarazos de riesgo, entre otras. (5-8)

No obstante, el tratamiento con CoQ10 presenta grandes beneficios terapéuticos revirtiendo las patologías y / o mejorando la calidad de vida del paciente con mejores resultados especialmente si el diagnóstico y tratamiento se realiza durante la niñez (5). Es por ello que resulta fundamental el diagnóstico precoz de la deficiencia de CoQ10 y el inicio del tratamiento adecuado.

DIAGNÓSTICO DE LA DEFICIENCIA DE COQ10

La determinación de la concentración plasmática de la coenzima Q10 usualmente es utilizada para la estimación del estado de dicha coenzima en humanos, principalmente por representar una muestra poco invasiva. Los niveles de referencia son extremadamente bajos: 0.40-1.40 μM en sujetos sanos (6, 9). Sin embargo, esta determinación no refleja estrictamente los niveles tisulares de CoQ10 siendo poco clara la correlación de los niveles plasmáticos de CoQ10 con la patología o la respuesta terapéutica (1). Este hecho

hace indispensable, si bien resulta invasivo, la determinación de CoQ10 en muestras como biopsias musculares o fibroblastos de piel. Trabajos recientes plantean la posibilidad de estimar con mayor precisión los niveles tisulares de CoQ10 mediante su determinación en células sanguíneas mononucleares o en plaquetas (10-12), aunque los rangos de referencia aun deben ser pertinentemente determinados.

TERAPÉUTICA

Actualmente las formulaciones de CoQ10 no son consideradas como especialidad medicinal. Esto se debe a que aun no resultan concluyentes los estudios clínicos que avalen los beneficios terapéuticos en diferentes patologías en una población lo suficientemente elevada. Si bien la Universidad de Florida (EEUU) en colaboración con la FDA (*Food and Drug Administration*), recientemente ha finalizado la fase III de un estudio clínico que evalúa la seguridad y el efecto terapéutico de la CoQ10 en pacientes con patologías mitocondriales (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00432744>), las Farmacopeas internacionales continúan definiéndola como un suplemento dietario (13). Dado que no pueden desconocerse los beneficios terapéuticos reportados en numerosos trabajos de investigación en distintos países (14-29), los especialistas recomiendan su uso si bien a las preparaciones solicitadas se las conoce como “formulaciones huérfanas”.

Las formulaciones disponibles en el mercado internacional son variadas: cápsulas duras conteniendo CoQ10 sólida, cápsulas blandas con suspensiones oleosas, sistemas autoemulsionables, micelas, complejos con ciclodextrinas, microemulsiones, nanoemulsiones o nanopartículas. Por otra parte, las tabletas efervescentes y las tabletas de rápida disolución son utilizadas con menor frecuencia.

Todas las formulaciones diseñadas tienen por objeto incrementar la pobre y variada biodisponibilidad de la CoQ10. Dicha molécula presenta un elevado peso molecular y es altamente lipofílica, tiene una muy baja solubilidad y muy baja permeabilidad, lo que en forma sólida la hace poco apta para la absorción en el tracto gastrointestinal. Además, la absorción presenta una elevada variabilidad intra e interindividual. Debido a ello, las formulaciones reportadas como más biodisponibles son aquellas que intentan mantener la CoQ10 en forma soluble (30-34).

Se ha reportado que la administración de CoQ10 es segura al menos hasta los 1200 mg/día y que no se acumula en tejidos al suspender el tratamiento, lo que incrementa su nivel de seguridad. La dosis más utilizada en niños es entre 10-30 mg/Kg/día y hasta 2400 mg diarios en pacientes adultos con deficiencias graves, idealmente administrada tres veces al día aunque aún no se han estandarizado protocolos de tratamiento y los resultados no son uniformes en todos los pacientes (35).

Dosis superiores a los 3000 mg/día no causan graves efectos en humanos pero se han reportado trastornos gastrointestinales y náuseas a estos niveles terapéuticos (30).

Un tratamiento temprano a elevadas dosis de CoQ10 podría cambiar radicalmente la historia natural de aquel grupo de patologías que involucran una deficiencia primaria de CoQ10. Los pacientes con todas las formas de deficiencia de CoQ10 muestran mejoras con la suplementación oral, si bien los síntomas cerebrales son sólo parcialmente aliviados probablemente por el daño cerebral estructural causado antes del tratamiento y dada la pobre penetración de la CoQ10 a través de la barrera hematoencefálica (36, 37).

El control terapéutico de la concentración plasmática de la coenzima Q10 debería considerarse a partir de las 3-4 semanas de tratamiento ininterrumpido, cuando se espera que se alcance un estado de equilibrio que generalmente puede establecerse en concentraciones plasmáticas de CoQ10 de 5-10 µg/mL (38, 39).

TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS DERIVADOS DE COQ10

Puesto que la absorción intestinal de la CoQ10 es muy limitada, el desarrollo de análogos estructurales similares a la CoQ10 pero menos hidrofóbicos y, por lo tanto, con un mejor perfil farmacocinético, emergen como tratamientos prometedores cuando la función mitocondrial se encuentra alterada. Los fármacos Idebenona y MitoQ® han sido evaluados en estudios clínicos en cuanto a seguridad, toxicidad y eficiencia en el tratamiento de diferentes patologías demostrando resultados exitosos en el Síndrome de Leigh, Ataxia de Friedreich, MELAS (*mitochondrial encephalopathy lactic acidosis and stroke-like episodes*) y Parkinson.

Ambos análogos presentan una mejor absorción intestinal y atraviesan la barrera hematoencefálica. Sin embargo, a largo plazo se espera que se diseñen agentes terapéuticos que incrementen la síntesis endógena de CoQ10 más que el uso de sus análogos. (30).

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS

Los fármacos utilizados en la disminución del colesterol, como lovastatina y pravastatina, inhiben la enzima Hidroxi Metil Glutatil CoA Reductasa requerida tanto para la síntesis del colesterol como de la CoQ10, resultando en una disminución de los niveles séricos de esta última (40, 41). Los beta bloqueantes, como el propranolol y metoprolol (42), y las fenotiazinas y antidepresivos tricíclicos, han demostrado inhibir ciertas enzimas CoQ10 dependientes (43). Por otra parte, dado que la CoQ10 actúa como la vitamina K (cofactor positivo del proceso de coagulación) podría contrarrestar el efecto anticoagulante de la warfarina (44). A su vez, cuando la CoQ10 es co-administrada con drogas antihipertensivas, se ha observado que podría potenciar su efecto (45). Asimismo, la CoQ10 puede mejorar la funcionalidad de la célula beta pancreática e incrementar la sensibilidad a la insulina. Esto reduciría los requerimientos insulínicos en pacientes diabéticos (46).

SITUACIÓN ACTUAL EN ARGENTINA

Si bien la situación mundial es diferente, existe un gran vacío de conocimientos en lo que respecta al estudio de la CoQ10 en Argentina. Como consecuencia de la escasez de conocimientos especializados en el área, se generan diagnósticos equivocados, se dificulta establecer la prevalencia real de la deficiencia de CoQ10 y se retrasan los desarrollos analíticos apropiados para su correcta evaluación así como el desarrollo de medicamentos eficaces para su tratamiento. Sumado a ello, las empresas farmacéuticas se muestran renuentes a la producción de tales medicamentos en condiciones normales de mercado, ya que no hay una expectativa razonable de que el costo de poner en marcha dicha producción se restituya a través de la comercialización. Es por ello que estas patologías se encuentran “desamparadas” no sólo del interés del mercado sino también de las políticas de salud pública lo que se traduce en impedimentos para que mejore la calidad de vida de los pacientes con este tipo de patologías. Todo lo expuesto contribuye a concluir que la deficiencia de CoQ10 constituye una “enfermedad huérfana” en nuestro país.

Hasta hace relativamente poco tiempo en Argentina no existía la posibilidad de realizar la determinación de CoQ10 en ninguna matriz puesto que no se habían desarrollado las metodologías analíticas adecuadas para tal fin. Como resultado, en caso de sospecha de déficit de CoQ10, las muestras debían ser enviadas al exterior con la consecuente demora en los resultados que podía ser de hasta un año y la elevación de los costos. Desde el año 2010, en el Centro de Investigación y Control Farmacéutico (CIDEF) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, se puede realizar la determinación plasmática, muscular y plaquetaria de CoQ10 para el diagnóstico y control post tratamiento en pacientes que presentan deficiencias tanto primarias como secundarias de CoQ10 (47-50). Actualmente se están desarrollando

métodos analíticos de elevada sensibilidad y selectividad por impresión molecular así como métodos no invasivos de diagnóstico y seguimiento evaluando CoQ10 en células mediante un hisopado bucal que será especialmente beneficioso para la población pediátrica.

En relación a la terapéutica, el único tipo de formulación disponible en Argentina se limita a la forma de CoQ10 sólida (cápsulas o sellos) a nivel magistral. Como se mencionó previamente, además de la baja biodisponibilidad de esta forma farmacéutica que se prescribe en la actualidad, su uso es aun más problemático en neonatos, en pacientes pediátricos, en pacientes con patologías mitocondriales (que presentan una gran dificultad para ingerir sólidos) y en pacientes sondados, por lo cual el tratamiento resulta absolutamente inadecuado e ineficiente.

En concordancia con esta afirmación, hemos observado que el 100% de los pacientes pediátricos que son suplementados con la formulación sólida de CoQ10, que son analizados en nuestro laboratorio, no alcanzan los niveles plasmáticos esperados post tratamiento. Ante la imposibilidad de deglutir la cápsula, los padres se ven obligados a colocar el contenido de la misma en agua para administrársela a sus hijos. Sin embargo, esta práctica, dada la insolubilidad de la CoQ10 en agua, disminuye notablemente la cantidad ingerida. Por otra parte, la administración en neonatos con deficiencia de CoQ10 se ve impedida puesto que estos pacientes habitualmente se encuentran sondados y la CoQ10 sólida queda parcialmente retenida en la sonda. Además, es sabido que las formas farmacéuticas sólidas no deben ser administradas por sondas nasogástricas, a menos que fuera estrictamente necesario debido a que éstas se obstruyen fácilmente y deben ser reemplazadas. Las formas líquidas son las recomendadas para su administración en estos casos (51).

En respuesta a estos efectos negativos de las formulaciones sólidas, en el CIDEC iniciamos el desarrollo de formulaciones líquidas de CoQ10. En tal sentido, recientemente hemos desarrollado una forma líquida de CoQ10 que ha resultado ser fisicoquímicamente estable, de sabor agradable y de fácil dosificación (52, 53). Los estudios preliminares de biodisponibilidad relativa demuestran que presenta un incremento en su biodisponibilidad de 6 veces respecto de las formulaciones sólidas disponibles en la actualidad (54). Es de esperarse que la administración de estas formulaciones se traduzca en un mayor efecto terapéutico.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El estudio de la CoQ10 es un campo aún requiere investigación. Nuevos aportes científicos se publican a nivel mundial en relación a las deficiencias halladas en diferentes patologías, mayores beneficios terapéuticos y formulaciones farmacéuticas cada día más novedosas. Investigadores de diversos países preocupados por su estudio integran el *International Coenzyme Q₁₀ Association (ICQA)* que se reúne cada dos años para sumar conocimientos en el área. Sin embargo, en nuestro país aún hay mucho camino por recorrer. La evaluación de nuevas patologías que evidencien deficiencia de CoQ10, el desarrollo de mejores y más eficientes métodos analíticos para la correcta evaluación y diagnóstico preciso y el diseño de mejores formulaciones que puedan ser utilizadas por niños y adultos con el fin de mejorar la respuesta terapéutica son herramientas necesarias para que los pacientes y profesionales de la salud, especialmente pediatras y neurólogos infantiles, tengan acceso a los avances en el conocimiento de la CoQ10 para un mejor manejo de su deficiencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barshop B, Gangoiti J. (2007) "Analysis of coenzyme Q in human blood and tissues." *Mitochondrion* 7S, 89-93.
2. Crane F. (2001) "Biochemical functions of coenzyme Q10." *J. Am. Coll. Nutr.* 20 (6): 591-598.
3. Ernster L, Dallner G. (1995) "Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function." *Biochim. Biophys. Acta* 1271: 195-204.
4. Kubo H, Fujii K, Kawabe T, Matsumoto S, Kishida H and Hosono, K. (2008) "Food content of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in the Japanese diet." *J. Food Compos. Anal.* 21: 199-210.
5. Mancuso M, Orsucci D, Volpi L, Calsolaro V and Siciliano G. (2010) "Coenzyme Q10 in neuromuscular and neurodegenerative disorders." *Curr. Drug Targets* 114: 111-121.
6. Molyneux S, Young J, Florkowski C and Lever M. (2008) "Coenzyme Q₁₀: is there a clinical role and a case for measurement?" *Clin. Biochem. Rev.* 29 (2): 71-82.
7. Shults C, Oakes D, Kieburtz K, Beal M, Haas R, Plumb S, Juncos J, Nutt J, Shoulson I, Carter J, Kompoliti K, Perlmutter J, Reich S, Stern M, Watts R, Kurlan R, Molloy E, Harrison M, Lew M; Parkinson Study Group. (2002) "Effects of coenzyme Q₁₀ in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline." *Arch. Neurol.* 59: 1541-50.
8. Martinefski M, Contin M, Rodriguez M, Geréz E, Galleano M, Lucangioli S, Bianciotti L and Tripodi V. (2013) "Coenzyme Q in pregnant women and rats with intrahepatic cholestasis". *Liver International*, en prensa
9. Kaplan P, Sebastianová N, Turiaková J and Kučera I. (1996) "Determination of coenzyme Q in human plasma." *Physiol. Res.* 45 (1): 39-45.
10. Niklowitz P, Menke T, Andler W and Okun JG. (2004) "Simultaneous analysis of coenzyme Q10 in plasma, erythrocytes and platelets: comparison of the antioxidant level in blood cells and their environment in healthy children and after oral supplementation in adults." *Clin. Chim. Acta*, 342 (1-2): 219-26.
11. Niklowitz P, Menke T, Wiesel T, Mayatepek E, Zschocke J, Okun J and Andler W. (2002) "Coenzyme Q10 in plasma and erythrocytes: comparison of antioxidant levels in healthy probands after oral supplementation and in patients suffering from sickle cell anemia." *Clin Chim Acta* 326(1-2): 155-61.
12. Duncan A, Heales S, Mills K, Eaton S, Land J and Hargreaves I (2005) "Determination of coenzyme Q10 status in blood mononuclear cells, skeletal muscle, and plasma by HPLC with di-propoxy-coenzyme Q10 as an internal standard." *Clin Chem*, 51(12): 2380-2.
13. United States Pharmacopoeia 29-NF 24, pag 2382
14. Matthews R, Yang L, Browne S, Baik M and Beal, M. (1998) "Coenzyme Q₁₀ administration increases brain mitochondrial concentration and exerts neuroprotective effects." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 8892-97.
15. Montini G, Malaventura C and Salvati L. (2008) "Early coenzyme Q10 supplementation in primary coenzyme Q10 deficiency." *N Engl J Med.* 358(26): 2849-50.
16. Bhagavan H and Chopra R. (2007) "Plasma Coenzyme Q10 response to oral ingestion of coenzyme q10 formulations." *Mitochondrion* 7S: 78-88.
17. Artuch R, Brea-Calvo G, Briones P, Aracil A, Galván M, Espinós C, Corral J, Volpini V, Ribes A, Andreu AL, Palau F, Sánchez-Alcázar J, Navas P and Pineda M. (2006) "Cerebellar ataxia with coenzyme Q10 deficiency: diagnosis and follow-up after coenzyme Q10 supplementation." *J Neurol Sci* 246: 153-158.
18. Quinzii C and Hirano M (2011) "Primary and secondary CoQ(10) deficiencies in humans." *Biofactors*, 37(5): 361-5.
19. Cordero M, Alcocer-Gomez E, de Miguel M, Cano-Garcia F, Luque C, Fernandez-Riejo P, Fernandez A and Sanchez-Alcazar J (2011) "Coenzyme Q(10): a novel therapeutic approach for Fibromyalgia? case series with 5 patients." *Mitochondrion* 11(4): 623-5.
20. Stack E, Matson W and Ferrante R (2008) "Evidence of oxidant damage in Huntington's disease: translational strategies using antioxidants." *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1147: 79-92.
21. Lee J, Boo J and Ryu H (2009) "The failure of mitochondria leads to neurodegeneration: Do mitochondria need a jump start?" *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61(14): 1316-23.
22. Roffe L, Schmidt K and Ernst E (2004) "Efficacy of coenzyme Q10 for improved tolerability of cancer treatments: a systematic review." *J. Clin. Oncol.* 22(21): 4418-24.
23. Golbidi S, Ebadi A and Laher I (2011) "Antioxidants in the treatment of diabetes." *Curr. Diabetes Rev.* 7(2): 106-25.
24. Mancini A and Balercia G (2011) "Coenzyme Q(10) in male infertility: physiopathology and therapy." *Biofactors*, 37(5): 374-80
25. Teran E, Hernandez I, Nieto B, Távora R, Ocampo J and Calle A (2009) "Coenzyme Q10 supplementation during pregnancy reduces the risk of pre-eclampsia." *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 105(1): 43-5.
26. Adarsh K, Kaur H and Mohan V (2008) "Coenzyme Q10 (CoQ10) in isolated diastolic heart failure in hypertrophic cardiomyopathy (HCM)." *Biofactors* 32(1-4): 145-9
27. Caso G, Kelly P, McNurlan M and Lawson W (2007) "Effect of coenzyme q10 on myopathic symptoms in patients treated with statins." *Am. J. Cardiol.* 99(10): 1409-12.

28. Henchcliffe C and Beal M (2008) "Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis." *Nat. Clin. Pract. Neurol.* 4(11): 600-9.
29. Cooper J Korlipara L, Hart P, Bradley J and Schapira A (2008) "Coenzyme Q10 and vitamin E deficiency in Friedreich's ataxia: predictor of efficacy of vitamin E and coenzyme Q10 therapy." *Eur. J. Neurol.*, 15(12): 1371-9.
30. Villalba J, Parrado C, Santos –Gonzalez M and Alcain F (2010) "Therapeutic use of coenzyme Q10 and coenzyme Q10-related compounds and formulations". *Expert Opin. Investig. Drugs*, 19 (4):1-20.
31. Joshi S, Sawant S, Shegde A and Halpner A (2003) "Comparative bioavailability of 2 novel coenzyme Q10 preparations in humans." *Int. J. Clin. Pharmacol. Therap.*, 41 (1):42-48.
32. Kettawan A, Kunthida C, Takahashi T Kishi T, Chikazawa J, Sakata Y, Yano E, Watabe K, Yamamoto Y and Okamoto T. (2007). "The quality control assessment of commercially available coenzyme Q10-containing dietary and health supplements in Japan." *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 41: 124-131.
33. Balakrishnana P, Lee B, Oh D, Kim J, Lee Y, Kim D, Jee J, Lee Y, Woo J, Yong C and Choi H. (2009) "Enhanced oral bioavailability of Coenzyme Q10 by self-emulsifying drug delivery systems." *Int. J. Pharm.* 374: 66-72.
34. Hatanaka, J, Kimura, Y, Lai-Fu, Z, Onoue, S and Yamada, S. (2008) "Physicochemical and pharmacokinetic characterization of water-soluble Coenzyme Q10 formulations." *Int. J. Pharm.* 363: 112-117.
35. Emmanuele V, Lopez L, Berardo A, Naini A, Tadesse S, Wen B, D'Agostino E, Solomon M, Di Mauro S, Quinzii C and Hirano M (2012) "Heterogeneity of Coenzyme Q10 Deficiency: Patient Study and Literature Review". *Arch. Neurol.*69(8): 978-83.
36. Di Mauro S, Quinzii C and Hirano M (2007) "Mutations in coenzyme Q10 biosynthetic genes." *J. Clin. Invest.* 117(3): 587-9.
37. Rotig A., Mollet J, Rio M and Munnich A (2007) "Infantile and pediatric quinone deficiency diseases." *Mitochondrion*, 7 Suppl: S112-21
38. Miles M (2007) "The uptake and distribution of coenzyme Q10." *Mitochondrion*, 7 Suppl: S72-7.
39. Hosoe K, Kitano M, Kishida H, Kubo H, Fujii K and Kitahara M (2007) "Study on safety and bioavailability of ubiquinol (Kaneka QH) after single and 4-week multiple oral administration to healthy volunteers." *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 47(1): 19-28.
40. Mortensen S, Leth A, Agner E and Rohde M (1997) "Dose-related decrease of serum coenzyme Q10 during treatment with HMG-CoA reductase inhibitors." *Mol. Aspects Med.*, 18 Suppl: S137-44.
41. Nawarskas, J. (2005) "HMG-CoQ reductase inhibitors and coenzyme Q10." *Cardiol. Rev.* 13 (2): 76-9.
42. Kishi T, Watanabe T and Folkers K (1977) "Bioenergetics in clinical medicine XV. Inhibition of coenzyme Q10-enzymes by clinically used adrenergic blockers of beta-receptors." *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 17(1): 157-64.
43. Moreno-Fernandez A, Cordero M, Garrido-Maraver J, Alcocer-Gomez E, Casas-Barquero N, Carmona-Lopez M, Sanchez-Alcazar J and de Miguel M (2012) "Oral treatment with amitriptyline induces coenzyme Q deficiency and oxidative stress in psychiatric patients." *J. Psychiatr. Res.* 46(3): 341-5.
44. Singh U, Devaraj S and Jialal I (2007) "Coenzyme Q10 supplementation and heart failure." *Nutr. Rev.* 65(6 Pt 1): 286-93.
45. Bonakdar R and Guarneri E (2005) "Coenzyme Q10." *Am. Fam. Physician.* 72(6): 1065-70.
46. Hodgson J, Watts G, Playford D, Burke V and Croft K Coenzyme (2002) "Q10 improves blood pressure and glycaemic control: a controlled trial in subjects with type 2 diabetes." *Eur. J. Clin. Nutr.* 56(11): 1137-42 .
47. Lucangioli S, Flor S, Contin M and Tripodi V. (2009) "A capillary electrophoretic system based on a novel microemulsion for the analysis of coenzyme Q10 in human plasma by electrokinetic chromatography" *Electrophoresis* 30 (6):1899-1905.
48. Tripodi V, Flor S, Contin M and Lucangioli S. (2009) "Simple, Highly Sensitive Micro HPLC Method for the Determination of Coenzyme Q10 and its Major Related Substances." *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 32 (6): 860-873.
49. Contin M, Martinefski M, Lucangioli S and Tripodi V (2011) "Sistema cromatográfico miniaturizado para la determinación de coenzima Q10 en plasma, músculo y plaquetas" *A. Bioq. Clín. Lat.* 45 (2): 273-278.
50. Contin M, Martinefski M, Flor S, Lucangioli S and Tripodi V (2011) "Miniaturized HPLC-UV method for analysis of Coenzyme Q10 in human plasma." *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 34:20: 2485-2494.
51. Beckwitt M, Feddema S; Barton R and Graves C (2004) "A guide to drug therapy in patients with enteral feeding tubes: dosage form selection and administration methods." *Hosp. Pharm.* 39: 225-237.
52. Estevez P, Tripodi V, Buontempo F and Lucangioli S (2012) "Coenzyme Q10 stability in pediatric liquid oral dosage formulations." *Farm. Hosp.* 36(6): 492-7.

53. Estevez P, Tripodi V, Boscolo O, Chiappetta D, Buontempo F, Lucangioli S “Development of orphan coenzyme Q10 liquid formulations for pediatric patients” Eur J Pharm Sci. (en prensa).
54. Martinefski M, Samassa P, Contin M, Lucangioli S, Buontempo F.and Tripodi V (2013) “Relative bioavalability of coenzyme q10 formulations for pediatric individualized therapy: preliminary study.” Eur J Pharm Sci. (en prensa).

FARMACOVIGILANCIA EN LA ACTUALIDAD EN ARGENTINA**Dra. Ines Bignone.**

2da Cátedra de Farmacología. Facultad de Medicina. UBA. Directora de Evaluación de Medicamentos. ANMAT

CONTENIDOS

RESUMEN	89
SUMMARY	89
INTRODUCCIÓN	89
¿CÓMO SE TRABAJA EN FARMACOVIGILANCIA?	91
LA IMPORTANCIA DE LA COMUNICACIÓN Y DIFUSIÓN DE LOS HALLAZGOS DE FARMACOVIGILANCIA	92
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

RESUMEN

La farmacovigilancia comienza en los años 60 luego de la tragedia de la Talidomida. Es una herramienta fundamental en el control y fiscalización de los medicamentos, ya que permite la detección temprano de los efectos adversos y/o inesperados de los medicamentos y esto permita tomar medidas regulatorias. Los efectos adversos a los medicamentos se definen como una reacción nociva y no deseada que se presenta tras la administración de un fármaco, a las dosis utilizadas habitualmente. Tanto los profesionales de la salud como los pacientes pueden notificar una supuesta reacción adversa. La ANMAT analiza datos de diversos países y conjuntamente con los hallados en nuestro país, publica mensualmente tales novedades.

Palabras clave: farmacovigilancia, efectos adversos, ANMAT

SUMMARY

Pharmacovigilance begins in the 1960s after the tragedy of Thalidomide. It is a fundamental tool in the control and oversight of drugs, since it allows early detection of adverse or unexpected effects of drugs, and this will allow to take regulatory actions. Adverse drug effects are defined as harmful and undesired reaction that occurs after the administration of a drug, in the dose commonly used. Both health professionals and patients may report an alleged adverse reaction. The ANMAT analyzes data from various countries and together with those found in our country, monthly published such news.

Keywords: pharmacovigilance, adverse drug effects, ANMAT

INTRODUCCIÓN

El concepto de seguridad de los medicamentos tiene una larga historia, aunque su evaluación sistemática y obligatoria comienza a principios del siglo XX. Tal como la entendemos actualmente, la farmacovigilancia es posterior a las reformas del marco regulatorio de los medicamentos en los inicios de los años '60, en buena medida como consecuencia de la llamada "tragedia de la talidomida".

La farmacovigilancia es una herramienta indispensable para el control y fiscalización de las especialidades medicinales, ya que permite la detección temprana de los efectos adversos y/o inesperados de los medicamentos durante la fase de uso extendido de los mismos; también contribuye a la percepción de las fallas de respuesta terapéutica por deficiencias de calidad. De esta manera, permite tomar medidas

regulatorias útiles, y en muchos casos, necesarias, tanto para la práctica clínica como para que las políticas de salud relativas a medicamentos (fundamentalmente, el acceso a medicamentos efectivos, seguros y de calidad) resulten efectivas.

La farmacovigilancia, según la definición de la Organización Mundial de la Salud (2002) es la ciencia y las actividades relativas a la detección, evaluación, comprensión y prevención de los efectos adversos de los medicamentos o cualquier otro problema relacionado con ellos. Es una definición muy abarcativa, ampliada con respecto a las empleadas en los años previos, que pone énfasis en su carácter científico (es el primer elemento que incluye) y amplía el campo de incumbencia al incluir todo tipo de problemas derivados de los medicamentos y su uso. Es probable que en los próximos años se puntualice aún más, de forma de definir aún mejor el concepto y campo de aplicación de la farmacovigilancia, que, como actividad profesional, ha crecido enormemente en los últimos años, tanto a nivel global como en nuestro país.

Los efectos adversos a los medicamentos se definen como una reacción nociva y no deseada que se presenta tras la administración de un fármaco, a las dosis utilizadas habitualmente. Para calificarlo como efecto adverso, se debe considerar que hay una relación de causalidad entre la administración del fármaco y la aparición de esa reacción, lo cual se hace a través de diversos procedimientos de análisis de imputabilidad. Entre los diversos tipos de efectos adversos (cuya clasificación es compleja) se incluyen no sólo las categorías más frecuentes (como las reacciones colaterales y los efectos secundarios, de relación directa y relativamente simple con la dosis, o las reacciones idiosincráticas y las de hipersensibilidad, menos relacionados con las dosis de uso en medicina) sino también manifestaciones asociadas al uso crónico (por ejemplo fenómenos adaptativos a la exposición prolongada a un fármaco), consecuencias diferidas en el tiempo (como teratogenia o carcinogénesis), cuadros de abstinencia vinculados con la supresión del tratamiento e incluso los cuadros de falla inesperada del tratamiento (por ejemplo como consecuencia de interacciones). En esa última categoría se encuentra el límite con lo que la definición mencionada líneas más arriba incluye como "otros problemas relacionados a los medicamentos", cuando aparece falta de eficacia por la utilización de un producto "subestándar" (que pueden o no cumplir la definición de efecto adverso) o situaciones tales como una confusión en el nombre comercial, que se consideran dentro del rubro de errores de medicación. En el caso de la aparición de medicamentos falsificados, éstos pueden no presentar el efecto esperado, o un efecto menor al esperado o, en algunos casos, incluso un efecto mayor o directamente tóxico.

Durante la fase de desarrollo de un nuevo fármaco, la cantidad de pacientes expuestos no es suficientemente numerosa como para detectar todos los efectos adversos; además, suele tratarse de pacientes con cierta homogeneidad en su patología y el tratamiento se realiza por un tiempo acotado. Por lo tanto, las reacciones adversas poco frecuentes, las interacciones medicamentosas y otros efectos, por ejemplo derivados de las posibles co-morbilidades, suelen no aparecer hasta tanto se generalice su uso en toda la población destinataria de ese medicamento. Uno de los principales objetivos de la farmacovigilancia es la ampliación del conocimiento de una droga durante los primeros años de su entrada en el mercado de un país, especialmente (pero no sólo) en lo referido a su seguridad. Entre otras, en esta etapa es muy importante la detección de los efectos adversos, de interacciones y de las consecuencias del empleo de esa droga en poblaciones vulnerables (por ejemplo mujeres embarazadas) habitualmente excluidas de los ensayos clínicos pero que inevitablemente aparecen durante el empleo corriente en terapéutica.

Recientemente en nuestro país y desde hace unos años en Europa y EEUU, las empresas farmacéuticas deben presentar conjuntamente con la solicitud de registro de una nueva entidad molecular o nuevo fármaco, un plan de seguimiento del mismo durante los primeros años de su comercialización. Este plan, denominado de gestión de riesgo, debe ser preparado por cada laboratorio teniendo en cuenta los riesgos hallados durante la fases no clínicas y clínicas de la investigación de ese producto, y otros riesgos ya conocidos (por ejemplo, efectos propios de la clase de medicamentos a la que pertenece el nuevo producto). El plan consiste en

actividades corrientes de farmacovigilancia, más instructivos para los médicos y en caso de riesgos prevenibles, la descripción de los medios para evitar tales efectos adversos, en algunos casos, con elevada participación del propio fabricante: un ejemplo ilustrativo es la realización de estudios de laboratorio que se deben realizar obligatoriamente antes de dispensar o utilizar un determinado medicamento. Una vez aprobado el plan, la empresa farmacéutica que lo lleva a cabo debe presentar los resultados semestral o anualmente, según se haya estipulado.

En el marco cambiante y crecientemente judicializado del ejercicio profesional, los profesionales de la salud que prescriben el medicamento tienen que acostumbrarse a optimizar su actividad, registrando mejor los datos de los pacientes, su seguimiento clínico y de laboratorio, incluso los pertinentes a su seguridad. Es decir, los médicos y odontólogos deben hacer un seguimiento estricto de sus pacientes y registrarlo. Aunque este concepto es general, teniendo en cuenta que muchos de los medicamentos recientemente aprobados son de origen biotecnológico, como anticuerpos monoclonales u otras moléculas complejas proteicas que pueden tener efectos adversos graves, muchos de tipo inmunológico-infecciosos, se requiere aumentar la atención sobre este tipo de efectos adversos, ya que no siempre los profesionales estamos suficientemente alertas a relacionar su presencia con los medicamentos.

Las notificaciones de los efectos adversos recibidas en el Sistema Nacional de Farmacovigilancia argentino se incluyen en bases de datos nacionales e internacionales (la de la OMS). Estas bases son evaluadas periódicamente con sistemas de análisis de tipo bayesiano (dado que no se sabe la cantidad de pacientes que lo han consumido) con el fin de obtener las “señales” que luego pueden traducirse en hipótesis, a ser confirmadas o rechazadas con otros tipos de estudios, incluso ensayos clínicos.

Una actividad complementaria (no alternativa) de la notificación y muy importante es la publicación en medios científicos adecuados de los casos clínicos de efectos adversos, interacciones u otros problemas, de modo de generar bibliografía científica sobre los mismos, lo que facilita su análisis y caracterización y en definitiva, redundando en beneficio del correcto ejercicio de las actividades vinculadas a la salud. El conocimiento de los efectos adversos de los medicamentos es fundamental para el profesional a la hora de elegir el medicamento para su paciente, intentando ponderar el beneficio y el riesgo implícitos en su indicación. Por otro lado, los medicamentos pueden producir lesiones o manifestaciones dérmicas, hepáticas, hematológicas, neurológicas etc., que deben ser conocidas al momento del diagnóstico médico, dado que esos síntomas y signos pueden confundirse con otras enfermedades y en muchas situaciones deben ser considerados como un diagnóstico diferencial.

Actualmente se está ampliando la idea de seguridad en el uso de medicamentos, de modo que el eje de atención no es ya, exclusivamente, la seguridad del medicamento, sino que se incorpora también la seguridad del paciente. Aunque suene obvio, un mismo medicamento representa diferentes riesgos en pacientes distintos, y un mismo paciente tiene riesgos diferentes con medicamentos distintos. Es una relación donde ambos componentes de la interacción paciente-medicamento (y las condiciones en que se produce la misma) son críticos y su descomposición en elementos propios de cada uno puede hacer perder de vista ese carácter dialéctico. En el caso de la seguridad de los pacientes, se incluyen otros aspectos pero en la actualidad contempla en gran medida el uso y contacto con los medicamentos.

¿CÓMO SE TRABAJA EN FARMACOVIGILANCIA?

Tanto los profesionales de la salud como los pacientes pueden notificar una supuesta reacción adversa o “no deseada” que considera que podría estar relacionada con la medicación que prescribió, dispensó, ingirió o (se) aplicó, dependiendo de quien notifica. Esta notificación actualmente puede realizarse *on line*, entrando.

El formulario es diferente si se desea notificar un presunto efectos adverso, una falta de eficacia, un "efecto supuestamente atribuido a vacunas e inmunizaciones" (ESAVI), un fitoterápico o un posible error de medicación.

El Sistema Nacional de Farmacovigilancia fue creado en 1993 por una resolución ministerial (908/93) y funciona con un efector central, en el Departamento de Farmacovigilancia de la ANMAT (Av. de Mayo 869, piso 11) y grupos de trabajo descentralizados, los efectores periféricos, donde los médicos y los farmacéuticos son los actores principales, ubicados físicamente en hospitales, colegios de farmacéuticos, facultades de diversas universidades, etc. El efector central recibe las notificaciones y las evalúa, tras lo cual las ingresa en la base de datos de la OMS, en el Centro de Monitoreo de Eventos Adversos (UMC) que funciona en Uppsala (Suecia) con más de 5 millones de notificaciones, desde su creación los que son utilizados para la detección de señales (a través de los análisis mencionados líneas más arriba).

A título personal, me parece importante que los fabricantes cuiden y conozcan sus propios productos, estimulando entre los profesionales de la salud la detección y notificación de efectos adversos. Recientemente han sido publicadas las Buenas Prácticas en Farmacovigilancia (Disposición ANMAT 5358/12), que establecen un marco normativo local para el cumplimiento de las actividades de farmacovigilancia por todas las empresas farmacéuticas de nuestro país, a tono con las normas internacionales.

Durante 2012 el Sistema Nacional de Farmacovigilancia recibió un total de 7186 notificaciones. Entre ellas, 5582 correspondían a reacciones adversas de medicamentos, de las cuales 4505 procedían de las empresas fabricantes de medicamentos, 982 de efectores periféricos y 95 de otros notificadores. Se recibieron también 678 notificaciones de desvíos de calidad y 439 sobre eventos supuestamente atribuibles a vacunación e inmunización (ESAVI), además de las notificaciones desestimadas y las correspondientes a errores de medicación (efectivamente incurridos o posibles). Se aprobaron 34 planes de gestión de riesgo y se recibieron 517 informes periódicos de seguridad correspondientes a productos en comercialización. A partir de la información que genera o recibe de otras fuentes, las acciones llevadas a cabo por el sistema de FV pueden ser la inclusión de información de seguridad en el prospecto o restricciones al uso del medicamentos, el cambio de la condición de expendio, retiro del mercado de un lote o de un medicamento.

LA IMPORTANCIA DE LA COMUNICACIÓN Y DIFUSIÓN DE LOS HALLAZGOS DE FARMACOVIGILANCIA

Distintas agencias de medicamentos internacionales (FDA, Health Canada, EMA, TGA de Australia) publican diariamente en sus páginas *web* distintos problemas encontrados con medicamentos, ya sea nuevos efectos adversos descriptos para nuevas drogas como retiros del mercados por defectos de calidad (*recalls*).

La ANMAT analiza esos datos y conjuntamente con los hallados en nuestro país, publica mensualmente tales novedades. En caso de retiro de lotes, esta información también aparece en el Boletín Oficial.

En el minisitio de farmacovigilancia en la página web de la ANMAT : (<http://www.anmat.gov.ar/farmacovigilancia/principal.asp>) se han publicado novedades de seguridad sobre 60 drogas, 11 grupos terapéuticos y 5 vacunas.

Otra modalidad de difusión que emplea ANMAT es la participación en cursos para profesionales de la salud, presentaciones en congresos, publicaciones, etc.

La importancia de estas actividades de difusión surge de la magnitud de los efectos adversos como problema de salud: según diferentes estudios, del 15 al 20% de los pacientes internados tienen alguna reacción adversa a medicamentos. Dado que muchos de esos problemas son prevenibles, éste y otros esfuerzos por hacerlos conocer redundará en un mejor cuidado de salud de nuestra población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Vigilancia Farmacológica Internacional – Funciones de los Centros Nacionales, Informe Técnico OMS Nro. 489/72

Resolución 706/93 – Ministerio de Salud y Acción Social.

Boletín para Profesionales – ANMAT – Pag. web ANMAT

Ten Han, Martin – Responsibilities in Communication of Pharmacovigilance Information _ Effective Communications in Pharmacovigilance – The Erice Report The Uppsala Monitoring Center – Sep. 1997.

Guidelines for preparing care Clinical Safety – Information on Drugs 2° Ed. CIOMS 1999.

Safety of medicine. A guide to detection and reporting adverse drug reaction. WHO/EDM/QSM/2002

La farmacovigilancia: garantía de seguridad en el uso de los medicamentos. Políticas de la OMS sobre medicamentos. OMS Octubre 2004

The Uppsala Monitoring Centre - WHO www.who-umc.org

Hugman B., Dadoo A. , (2004) All Countries Need Pharmacovigilance, Uppsala Reports 31, p.19, www.who-umc.org

SEMBLANZA DEL PROF. DR. RUBÉN VICTOR DANIEL RONDINA

Miembro titular de esta Academia desde 1997, falleció el 25 de junio de 2013. Había nacido en la provincia de Buenos Aires el 1° de junio de 1934. Era farmacéutico (1957) y doctor en Farmacia (1975) egresado de la Universidad de Buenos Aires. Ejerció cargos docentes en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, llegando a ser profesor regular titular con dedicación exclusiva, por concurso, de la asignatura Farmacognosia. En la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura de la Univ. Nacional del Nordeste actuó como Profesor titular con dedicación exclusiva, interino, en la Cátedra de Toxicología; y en la School of Pharmacy de la Universidad de Illinois (EEUU), fue nombrado Profesor asistente en investigación (1973). Fue investigador independiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas y fue nombrado subdirector del Instituto de la Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA, UBA-CONICET), en mérito a su contribución durante la creación de dicho Instituto por convenio con la Universidad de Buenos Aires (1983).

Fue Secretario Académico y Consejero de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, miembro fundador de la Sociedad Argentina de Toxicología, de la Sociedad Argentina de Investigaciones en Química Orgánica (SAIQO) y de la Fundación Facultad de Farmacia y Bioquímica, en la que se desempeñó como presidente y vicepresidente. En esta Academia se desempeñó además como tesorero de su Consejo de Administración.

Publicó unos 65 trabajos en revistas locales y extranjeras y fue coautor de 7 libros. Actuó como organizador, disertante o participante con presentación de trabajos o ponencias en cientos de Congresos, Simposios, Jornadas y Reuniones científicas, tanto en el país como en el extranjero. Sus trabajos de investigación se han orientado al análisis sistemático de las plantas medicinales argentinas, a las metodologías de producción de extractos vegetales y fraccionamiento de los mismos. Recibió el premio “Félix de Azara” (bienio 1985-1986) y el “Bernardo Houssay”, edición 2003.

En la actividad privada fue Director Técnico de Farmacia y Codirector técnico y luego Gerente de Control de Calidad en la Industria Farmacéutica, así como Asesor de la misma mediante convenios con la Facultad de Farmacia y Bioquímica, actuando en actividades relacionadas con el desarrollo de nuevos productos y con la aplicación de las Buenas Prácticas de Fabricación y Control (GMP y GLP).

Durante su desempeño en el área de Farmacognosia desde 1966, formó numerosos recursos humanos interactuando con los docentes graduados, muchos de los cuales han permanecido como tales en la docencia universitaria mientras que otros ocupan cargos profesionales en la industria farmacéutica. Fue uno de los primeros en utilizar en nuestra profesión las modernas tecnologías computacionales en la actividad científica en el país (inicio de los años 70). Esta decisión lo orientó en toda su futura labor, tanto en la actividad científica como en la industria, donde impulsó el uso de bases de datos como herramientas que facilitaban el trabajo rutinario o simplificaban la búsqueda y organización de información. Merece una especial mención su labor en la creación y confección de una base de datos de las plantas medicinales argentinas. Editada en 3 reediciones sucesivas, en la misma quedaron registradas, gracias a más de 30 años de su labor personal y la de un grupo de sus colaboradores, 1.531 especies nativas medicinales o tóxicas, con más de 20.000 registros sobre nombres científicos y comunes, usos y referencias bibliográficas. Es una obra que revela varios aspectos fundamentales de la personalidad del Dr. Rondina: su motivación por la actualización permanente, su perseverancia y su estrategia planificadora, atributos que reiteradamente fueron valorados por colegas e instituciones profesionales.

Gracias a estas mismas cualidades personales, fue junto con el Dr. Jorge D. Coussio uno de los encargados de reformar la cátedra de Farmacognosia en nuestra Facultad, orientándola hacia las nuevas

tendencias de la especialidad, motivados por la aparición y perfeccionamiento de nuevas tecnologías analíticas. Con este mismo objetivo, fueron ambos los introductores en la Argentina de la cromatografía instrumental de alta resolución y responsables de la incorporación del tema en los programas de estudio; dictando los primeros cursos para graduados en el país sobre la materia.

El Dr. Rondina supo aportar el buen juicio y la oportuna gestión, y promovió o fundó hitos en nuestras ciencias. Pero también es fundamental que se ponderen sus cualidades personales, los valores intangibles, la condición humana en su afecto, su cordialidad, su alegría, su siempre buena predisposición, su experiencia humana, su actitud planificadora y creativa, su ímpetu, su sencillez, su dedicación a ultranza y no solo su testimonio profesional. Por esto el Dr. Rondina fue un Académico cabal y le debemos este modesto pero emotivo homenaje.

Arnaldo L. Bandoni

SEMBLANZA DE ANÍBAL G. AMAT

Aníbal Gumersindo Amat, miembro correspondiente de esta Academia desde hace cinco años, había nacido en La Plata el 16 de febrero de 1958. Lo conocí en su mocedad, cuando a comienzos de 1976 iniciamos juntos la Licenciatura en Ciencias Naturales (Orientación Botánica) en la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata. Yo había decidido complementar mi formación farmacéutica y bioquímica y él se debatía entre su afición literaria (Aníbal era un promisorio poeta) y su vocación por el estudio de la "Ciencia Amable", como denominara Linneo a la Botánica. A pesar de la diferencia de edad (yo ya había finalizado mi tesis doctoral y él acababa de completar sus estudios secundarios), se estableció entre ambos a partir de entonces una hermosa amistad, que se prolongó hasta su desaparición, ocurrida el mes pasado, pocos días antes de cumplir los 55 años.

Aníbal Amat obtuvo su título de grado (Licenciado en Ciencias Naturales con Orientación Botánica) en 1985 y se doctoró en 1991, cuando ya era integrante del plantel docente de la joven Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones, en la ciudad de Posadas, donde constituyó su domicilio y formó una hermosa familia, integrada por su esposa y sus tres hijos. En el momento de su desaparición revistaba como Profesor Titular Regular con Dedicación Exclusiva de las Cátedras de Farmacognosia y de Biología Vegetal de la mencionada Unidad Académica, sita en la calle Félix de Azara de la ciudad de Posadas, así llamada en homenaje al primer naturalista rioplatense, nombre que también recibe uno de los premios que otorga la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires y al que Aníbal Amat se hizo acreedor en el año 2006... (¿coincidencias?).

Apenas ingresado a la Universidad Nacional de Misiones fue designado Coordinador del Ciclo Específico de la Carrera de Farmacia, donde se desempeñó sucesivamente como Director del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales y luego sucesivamente como Director del Departamento de Biología y como Consejero Directivo de dicha Unidad Académica. A pesar de no ser farmacéutico, fue el responsable de la organización de la Carrera de Farmacia en la Universidad Nacional de Misiones, para lo cual contó esencialmente con el apoyo de profesores de las Universidades de Buenos Aires y de La Plata. Dado su inicio como docente auxiliar en la Cátedra de Farmacobotánica de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, su formación botánica inicial se fue enriqueciendo en el conocimiento de las propiedades de las plantas medicinales, a tal punto que le valió el reconocimiento de sus pares farmacéuticos, quienes propusieron su incorporación hace ya algunos años como Miembro de la Subcomisión de Fitoterápicos de la Farmacopea Nacional Argentina.

Su tarea como investigador también reveló ese sesgo farmacológico que adquirió su formación inicial como botánico, donde privan y se destacan sus trabajos relacionados con estudios farmacobotánicos y farmacognósticos de especies medicinales utilizadas en Misiones, incluidos estudios de genotoxicidad de las mismas y de sus aplicaciones en la ciencia forense. No menos trascendente fue por otra parte su aporte como Director de Conservación y Medio Ambiente de la Secretaría de Cultura de la Provincia de Misiones, vinculados a la Restauración y Puesta en Valor de los Conjuntos Monumentales Jesuíticos Reducciones de Indios Guaraníes existentes en Misiones y en Paraguay, entre los que pueden citarse los Estudios de Conservación - aspectos florísticos- en los Conjuntos Jesuíticos de San Ignacio Miní y de Nuestra Señora de Loreto de Misiones y el Microanálisis de Materiales Estructurales y Decorativos de origen vegetal en la Reducción de San Cosme y San Damián en Paraguay, así como los correspondientes a la Restauración de las Reducciones Jesuíticas de Santa Ana, Santa María La Mayor y Santos Mártires del Japón, que contaran con el apoyo y reconocimiento de la Sociedad Estatal V Centenario de España, de la Comisión Nacional de Monumentos y Sitios de Argentina y de la Università degli Studi di Napoli "Federico II" de Italia. .

El compromiso adquirido para con su patria chica adoptiva lo llevó finalmente a actuar como Coordinador del Proyecto “Museo Virtual de la Biodiversidad de la Provincia de Misiones, Argentina”, emprendimiento conjunto del Consejo Federal de Inversiones, la Provincia de Misiones y la Universidad Nacional de Misiones. Este original emprendimiento está planteado como un espacio de articulación entre el conocimiento científico actual y el interés general, público y privado, teniendo como eje central la diversidad biológica, resaltando los tres planos de la misma: diversidad de ecosistemas, diversidad de especies y diversidad genética, organizado sobre la base de imágenes y textos vertebrados en una base de datos.

Al comienzo de esta semblanza hice referencia a la temprana vocación poética de Aníbal Amat, de la que tuve oportunidad de ser testigo en una presentación oral organizada por el grupo literario platense “Latencia” al que él perteneció, allá por 1978, pero de la que no creo que haya quedado mucha información escrita, como tampoco de su admiración por Borges, con quien se encontró en más de una oportunidad. De todos modos su vocación literaria le permitió editar un par de libros, claro que no de poesía ni de ficción, sino relacionados con la veta académica, como “Farmacobotánica y Farmacognosia en la Argentina”, editado en 2001, o “Improntas Epidérmicas de Plantas Cultivadas”, aparecido en el 2009.

Nuevamente en esta oportunidad, como en el caso de Eloy Mandrile el año pasado, me toca despedir a un amigo. A un amigo que precisamente fue propuesto como Académico Correspondiente a instancias de Eloy Mandrile, aunque por el hecho de residir en Posadas, Aníbal Amat probablemente no era conocido por la mayoría de los académicos presentes. Los que sí lo conocimos y tuvimos el placer y el honor de compartir con él ya sean vivencias personales, científicas y/o académicas, hoy lamentamos que nos haya dejado. Y a este lamento seguramente se une esta corporación académica, que se priva de seguir contando con el aporte de uno de sus más jóvenes y promisorios miembros. Sólo resta despedirlo, agradeciendo sus aportes a la profesión farmacéutica. Adiós, Aníbal, querido amigo.

Acad. Néstor Caffini

REVISTA FARMACÉUTICA : RECOMENDACIONES PARA LOS AUTORES

Revista Farmacéutica, órgano de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica, considerará la publicación de trabajos vinculados directa o indirectamente a las Ciencias Farmacéuticas y ó Bioquímicas, en la forma de Reviews (Revisiones).

Los trabajos deben remitirse al Comité Editor de Revista Farmacéutica, Junín 956 (1113) en Buenos Aires – Argentina, por escrito a renglón por medio. El autor deberá enviar una versión electrónica a acad@ffyb.uba.ar, conteniendo el archivo correspondiente en Word for Windows.

La presentación deberá ajustarse a las siguientes normas generales:

La extensión del trabajo, incluyendo gráficos, cuadros, tablas, etc. y referencias bibliográficas, no deberá superar 20 carillas.

Configuración de páginas: El texto debe ser presentado en el procesador de texto Microsoft Word, con un tamaño de papel A4, con márgenes superior, izquierdo, inferior y derecho de 2,5 cm e interlineado de 1,5 con alineación justificada, numeradas en el ángulo inferior derecho de cada página. En cada punto y aparte dejar sangría. La letra a emplear es Arial, estilo normal, tamaño 11.

Título: debe ser conciso y suministrar la mayor información sobre el contenido del trabajo, en la primera línea de la primera página. Debe ser claro, descriptivo y no exceder las 20 palabras, sin abreviaturas, alineación centrada, en negrita. Letra Arial, tamaño 14.

Los trabajos en español, deberán incluir una traducción del título en inglés, que se incluirá dentro del Summary.

Autores: debajo del título deberán consignarse los nombres y apellidos completos de los autores, separados por una coma y en negrita, con indicación (*) de quien es el autor a quien dirigir la correspondencia. A continuación deberá señalarse lugar de pertenencia o afiliaciones y direcciones completas de los mismos, indicando con superíndices en números la relación entre un autor y su afiliación y dirección.

Resumen: en la segunda página escribir la palabra “RESUMEN” en negrita. El resumen deberá contener de 200 a 300 palabras con interlineado 1,5. No debe presentar abreviaturas. Debe reflejar claramente y de manera concisa los temas tratados en el trabajo. A continuación se incluirá un summary en inglés.

Deberán incluirse tres palabras clave o key words en español e inglés, respectivamente luego del resumen correspondiente.

Tabla de contenidos: incluirá los subtítulos de cada sección que componga el cuerpo del manuscrito:

Resumen –Summary

Introducción

Desarrollo (incluyéndose los diferentes ítems que lo componga)

Conclusiones

Referencias Bibliográficas

Agradecimientos (si corresponde)

Cuerpo del manuscrito: Cuando se hagan referencias en el texto a cantidades nunca deberán expresarse en letras. Para cantidades decimales deberá utilizarse la coma (,) incluso cuando se trate de una cita en inglés (Ej: 33506,20). Valores porcentuales deberán ser expresados con dos cifras decimales. Las unidades de cualquier dato deben seguir el sistema de unidades internacionales. Se pueden incluir abreviaturas de términos que se repetirán a lo largo del trabajo. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura deberá estar precedida de los términos completos.

Los nombres científicos completos deberán ser colocados en su primera mención. En posteriores menciones se usará solo la letra inicial del género más la especie sin agregar el clasificador (abreviaturas “*var.*”, “*subsp.*”, etc.). Los nombres comunes de especies bien conocidas pueden ser usados una vez que hayan sido identificados con los nombres científicos completos en su primera mención. Toda locución latina deberá ir en letra cursiva (Ej.: *et al.*, *in vitro*, *Opuntia boldinghii*).

Citas en el texto: En el texto, las referencias se colocarán con números consecutivos, entre paréntesis, de acuerdo con el orden en que se presenten y deberán ser ordenadas numéricamente en las correspondientes referencias bibliográficas.

Tablas y cuadros: Se citarán con numeración arábica con su correspondiente título y epígrafe. Los títulos de las tablas deberán colocarse por encima de las mismas y serán numeradas con números arábigos. En el texto, la palabra “Tabla” no debe ser abreviada. Las abreviaturas dentro de las tablas deberán ser identificadas con una nota al pie de la misma.

Resultados gráficos que se toman de bibliografías de trabajos publicados, deberán presentar autorización del autor o del editor que los publicó, y se consignará el crédito de la procedencia en el manuscrito.

Figuras: Los archivos de las figuras deben tener extensión TIFF, BMP o JPEG, con un tamaño aproximadamente de 12 cm. de alto y con una resolución de 300dpi. Pueden ser figuras en color. Los títulos de las figuras deberán colocarse por debajo de las mismas y ser numeradas con números arábigos.

En el texto la palabra “Figura” debe ser abreviada a “Fig.”. Las abreviaturas dentro de las figuras deben ser identificadas con una nota al pie de la misma.

ENTIDADES COOPERADORAS DE LA ACADEMIA

Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Bs. As.
Confederación Farmacéutica Argentina (COFA)
Colegio Oficial de Farmacéuticos y Bioquímicos
Fundación Rene Barón
Asoc. Argen. de Farm. y Bioq. Industrial (SAFYBI)
CAEME
Laboratorios Abbot
 Bagó S.A.
 Casasco S.A.I.C.
 Roemmers S.A
 Roux Ocefa S.A.

La Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica expresa su agradecimiento a las Entidades Cooperadoras que permiten el cumplimiento de sus objetivos, “la promoción y el progreso de las Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas”, y la publicación de la “REVISTA FARMACÉUTICA” Y “ANALES DE LA ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA”