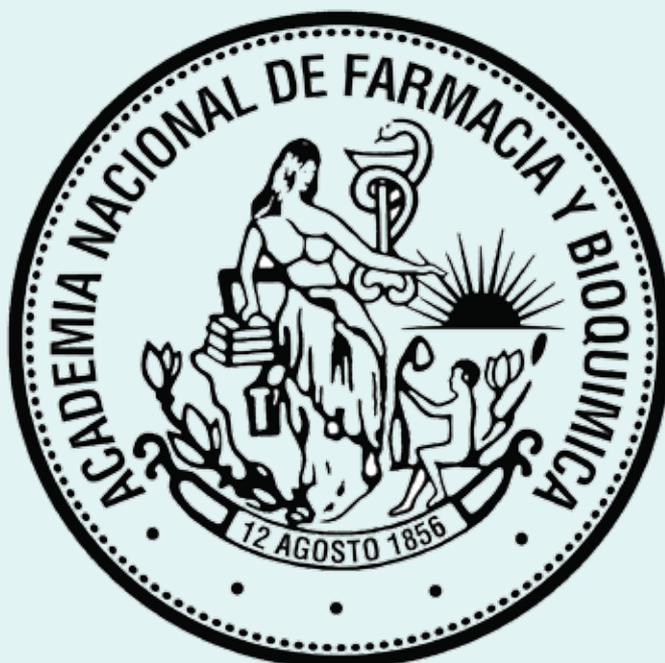


ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

REVISTA FARMACÉUTICA
REVIEWS



1858 - 2012

**“PREMIO AL PERIODISMO CIENTÍFICO 2012”
FUNDACION RENE BARON**

Revista Farmacéutica 154 N° 1-2 (2012) ISSN 0034-9496

Buenos Aires - Argentina

La Fundación René Baron fue creada en 1978 por el médico argentino René Baron. Su fin principal es promover y estimular la investigación y producción científica, especialmente en el campo de la medicina y el apoyo a la creación artística. El Consejo Directivo de la Fundación, en su reunión del pasado 27 de Septiembre de 2012, expresó que Revista Farmacéutica " que se edita sin interrupción desde 1858, merece ser reconocida como uno de los pilares del periodismo científico nacional" y por lo tanto la distingue con el Premio " Fundación René Baron-Premio al Periodismo Científico 2012".

Académico Carlos M Baratti
Presidente

Volumen 154

Nº 1-2

2012



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. María 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.fyb.uba.ar/academia/infex.htm>

Diseño y composición laser:

MaiaPortnoy- tel.: 156-670-9768

La presente edición de
se terminó de imprimir en

Noviembre de 2012 en

MP, Malabia 2106 5ºD

Palermo

Ciudad de Buenos Aires

REVISTA FARMACÉUTICA REVIEWS

Editada por la

Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica

Personería Jurídica Resol. Nº 1762-30/8/1968

CONSEJO DIRECTIVO 2011-2012

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

Las ideas que se exponen en el Reviews son de exclusiva responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente la opinión de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica.

ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ACADEMICOS TITULARES

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

ACADEMICOS EMÉRITOS

Acad. Arnaldo L. Bandoni	Acad. Mateo Chekherdemian	Acad. Alejandro C. Paladini †
Acad. Jorge D. Coussio	Acad. Enrique Ióvine	Acad. Juan Claudio Sanahuja †
Acad. Héctor M. Chechile	Acad. Horacio B. Rodríguez	Acad. Antonio Somaini

ACADEMICOS CORRESPONDIENTES

ARGENTINA

Acad. Aníbal G. Amat
Acad. Marcelo O. Cabada
Acad. Oscar H. Fay
Acad. Raul C. Fazio
Acad. Aída Pesce de Ruiz
Holgado
Acad. Guillermo R. Lossa
Acad. Rubén H. Manzo
Acad. Modesto P. Montecchia
Acad. Aldo D. Mottino
Acad. Elsa M. Nadalin

Acad. Jorge O. Nicolini
Acad. Otto A. Orsingher
Acad. Ana Maria Pechen D'Angelo
Acad. Gabriela Del Valle Perdigón
Acad. Hugo G. Pérez
Acad. María Luz Pita Martín
de Portela
Acad. Jorge Errecalde
Acad. Clelia M. Riera
Acad. Daniel O. Sordelli
Acad. Marcelo D. Squassini

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

ACADEMICOS 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 BIOQUÍMICA



REVISTA FARMACÉUTICA REVIEWS

Vol 154 (N°1-2) Año 2012

SUMARIO

GENOMICA NUTRICIONAL: NUTRIGENÓMICA Y NUTRIGENÉTICA

Por Marta Posadas..... 8

LOS COMPLEMENTOS DE LA LECHE MATERNA EN LA NUTRICIÓN DEL NIÑO PREMATURO

Por María Luz Pita Martín de Portela y Carmen Vecchiarelli..... 18

NECESIDADES DE ZINC Y COBRE EN LAS FÓRMULAS DE NUTRICIÓN PARENTERAL PARA ADULTOS

Por Ana María Menéndez y María Luz Pita Martín de Portela..... 39

SISTEMAS BIOADHESIVOS DE LIBERACIÓN DE DROGAS

Por María Guillermina Volonté..... 56

FOTOPROTECCIÓN – LINEAMIENTOS TÉCNICOS: PRESENTE Y FUTURO

Por Pablo A. M Quiroga y Marta M. Salseduc 72

LA RESERVA CEREBRAL Y COGNITIVA

Por Carlos M Baratti, Mariano M Boccia, Mariano G Blake, María C Krawczyk..... 84

EPILEPSIA CATAMENIAL VISTA COMO UNA ADAPTACIÓN MÓRBIDA

Por Rosa Eiraldi y Pietro Fagiolino..... 94

SEMBLANZAS

JUAN CLAUDIO SANAHUJA

Por María Luz Pita Martín de Portela..... 104

ELOY LORENZO MANDRILE

Por Néstor O. Caffini 106

ALEJANDRO C. PALADINI

Por Juan Pablo Rossi..... 108

GENOMICA NUTRICIONAL: NUTRIGENÓMICA Y NUTRIGENÉTICA

Por Marta Posadas

Cátedra de Biología - Facultad de Ciencias Médicas - Universidad Nacional de Rosario
Santa Fe 3100. Rosario. Santa Fe. Argentina
martaposadas@hotmail.com

RESUMEN

El Proyecto Genoma Humano (1990-2003) posibilitó durante su ejecución la expansión de una serie de nuevas tecnologías que impulsaron el desarrollo de las llamadas ciencias “ómicas”. El impacto de las nuevas tecnologías -debido a la gran cantidad de datos que se generan en cada experimento- ha sido tal, que hasta el proceso de investigación científica se ha visto alterado: el clásico devenir “hipótesis, luego experimento” ha dejado de ser tal, ahora es posible -cuando no obligado- el camino inverso.

La genómica -particularmente la genómica funcional- engloba el estudio del transcriptoma, el proteoma y el metaboloma presentes en una célula o tejido. Cuando confluye con la nutrición surge la “genómica nutricional”, que abarca la relación bidireccional entre los genes y la dieta a través de las dos disciplinas que la conforman: la “nutrigenómica”, que analiza el efecto de los alimentos, nutrientes y componentes alimentarios bioactivos en la regulación de la expresión y respuesta de los genes y la “nutrigenética”, que estudia la respuesta de la estructura genética particular del individuo a ciertos nutrientes y cuyo objetivo es elaborar recomendaciones sobre riesgos y beneficios de dietas concretas, o de componentes dietéticos aislados, para cada persona teniendo en cuenta sus genes.

Palabras clave: nutrigenómica – nutrigenética – ómicas

SUMMARY

NUTRITIONAL GENOMICS: Nutrigenomics and Nutrigenetics

The Human Genome Project (1990-2003) allowed the development of several technologies that in time promoted the rise of “omics” sciences. Due to the copious amount of data that are collected in each “omics” experiment, even the process of scientific research has been altered: the traditional “first hypothesis, then experiment” mode of operation has been replaced by the reverse process.

Genomics, particularly functional genomics, involves the study of transcriptome, proteome and metabolome. When these knowledges are applied to Nutrition, the field of Nutritional Genomics emerges. Nutritional Genomics studies the bidirectional relationship between genes and diet and it can be divided into two disciplines: “Nutrigenomics” that studies the effects of food, nutrients and food bioactive components on the expression and response of genes, and “Nutrigenetics” that studies the reaction of each different individual genetic structure to certain nutrients, intending to issue recommendations about risks and benefits of concrete diets or specific dietetic compounds taking into account the individual genome.

Key words: nutrigenomics – nutrigenetics - omics

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen	8
Summary	8
Introducción	9
Desarrollo	9
La variabilidad individual	9
El modelo Top – Down	10
Estrategias de estudio	11
Aspectos éticos, legales y sociales	15
Conclusión	16
Referencias Bibliográficas	16

INTRODUCCIÓN

La genómica nutricional no es otra cosa que la disciplina científica emergente de la aplicación de los conocimientos aportados por la genómica a la nutrición clásica.

Se denomina “genómica” al conjunto de ciencias y técnicas dedicadas al estudio integral del funcionamiento, el contenido, la evolución y el origen de los genomas, entendiendo por genoma la totalidad de la información genética que posee un organismo en particular, la suma de todos los genes de un organismo. Cabe diferenciarla de la genética, que profundiza en el estudio de los genes en tanto unidades de descendencia, buscando comprender la herencia biológica que se transmite de generación en generación. [1]

El Proyecto Genoma Humano (PGH), un megaproyecto internacional que se desarrolló entre 1990 y 2003, concluyó con la secuenciación de todos los nucleótidos del genoma y la localización de los genes en cada uno de los 23 pares de cromosomas del ser humano [2]; a este logro de por sí trascendental, debe sumársele el de posibilitar durante su ejecución la expansión de una serie de nuevas tecnologías de alto rendimiento que impulsaron el desarrollo de las llamadas ciencias “ómicas” (transcriptómica, proteómica, metabolómica) que en conjunto permiten el estudio de los aspectos dinámicos de los genes, es decir sus funciones e interacciones,; en otras palabras, la genómica funcional, de la cual la genómica nutricional es sólo una rama que profundiza en la relación bidireccional de los genes y la dieta [3].

La posibilidad de estudiar el nivel molecular permite analizar un primer impacto del PGH: el cambio en el concepto de enfermedad. Según Temple “resulta necesario redefinir el término enfermedad a la luz de nuestro creciente conocimiento genético, teniendo en cuenta los posibles riesgos y consecuencias adversas asociadas con ciertas variaciones genéticas”. [4]

Cuando la genómica confluye con la nutrición clásica surge la “genómica nutricional”, que como ya hemos dicho, estudia la relación bidireccional entre los genes y la dieta; lo va a hacer a través de las dos disciplinas que la conforman: la “nutrigenómica”, que analiza el efecto de los alimentos, nutrientes y componentes alimentarios bioactivos en la regulación de la expresión y respuesta de los genes y la “nutrigenética”, que estudia la respuesta de la estructura genética particular del individuo a ciertos nutrientes y cuyo objetivo es elaborar recomendaciones sobre riesgos y beneficios de dietas concretas, o de componentes dietéticos aislados, para cada persona teniendo en cuenta sus genes; se la conoce como “nutrición personalizada”. [5]

DESARROLLO

La variabilidad individual

El desafío de la investigación actual parece estar encaminado a detectar las variantes individuales, que hacen de cada uno de nosotros seres únicos y diferentes. Ya en 1956 Williams introdujo el concepto de “individualidad bioquímica” para remarcar que cada individuo tiene un metabolismo propio y diferente al de los demás. Recordemos que el 99,9% de las secuencias de ADN son idénticas, sin embargo las diferencias entre los distintos individuos -aunque cuantitativamente muy pequeñas- pueden ser sensibles al efecto de un componente dietético determinado, alterar la respuesta metabólica y determinar un fenotipo sano o enfermo. [6]

Aún sin ir al extremo de la salud y la enfermedad, sabemos que el fenotipo es el resultado de la interacción entre los genes y los factores ambientales. Si bien reconocemos la existencia de muchos factores ambientales, no siempre valoramos con suficiente énfasis lo siguiente: el factor al que estamos todos expuestos, de manera continua, y a lo largo de toda nuestra vida es la ingesta de alimentos. Por ello los hábitos dietéticos representan el factor ambiental más importante en la modulación de la expresión genética.

La forma más común de variabilidad genética son los polimorfismos de un solo nucleótido (conocidos como SNPs, acrónimo en inglés de Single Nucleotide Polimorfism) que hacen referencia a la variación que afecta a un solo nucleótido en la secuencia de ADN entre los individuos de una población. Este tipo de variaciones debe darse al menos en un 1% de la población para ser considerado un SNP.

Las mutaciones implican algún cambio en el material genético, que puede ir desde el cambio de un simple nucleótido a una pérdida importante del material genético, por lo tanto engloban también a los SNPs. Normalmente las mutaciones son consideradas patológicas o anormales, mientras que los SNPs se pueden considerar variaciones normales en la secuencia del ADN entre unos individuos y otros. Se podría decir que la mayoría de los SNPs proceden de mutaciones silentes, representando más del 90% de todas las variaciones genómicas humanas. Aparecen cada 100 a 300 bases de promedio, estimándose que el genoma humano contiene alrededor de 10 millones de SNPs. [7]

La comprobación molecular de la enorme variabilidad individual dispara otro de los cambios destacados que se introducen con la genómica nutricional: la forma en que deberán establecerse las recomendaciones dietéticas destinadas a la población general, ya que si no se tiene en cuenta la variabilidad en la respuesta, la eficacia de esas recomendaciones a nivel individual puede verse afectada categóricamente. La perspectiva de alimentación ideal para la población ha cambiado, ha quedado definido con mayor claridad que los requerimientos poblacionales pueden no ser los óptimos para mantener un estado de homeostasis en el ciclo de vida de una persona en particular y que cada individuo puede obtener mayores beneficios atendiendo a los requerimientos individuales o “a la medida genética”, valores que para otros podrían resultar deletéreos. [8, 9]

El modelo Top-down

Otro cambio que acarrea la era postgenómica puede hallarse en el proceso de investigación científica. Los estudios genómicos en general se caracterizan por su interdisciplinaridad, debido a que el gran número de datos que se generan en cada uno de los estudios de este tipo requiere combinar tanto conocimientos biológicos como estadísticos e informáticos. Precisamente de las ciencias de la informática surge un tipo de estrategia llamada “Top-down”, que se emplea en el procesamiento de información. En el modelo Top-down se formula un resumen del sistema, sin especificar detalles. Con este enfoque, primero se observa el comportamiento global de muchos genes o biomoléculas en un organismo (ARN, proteínas, metabolitos, etc.) y eventualmente se llega a conclusiones más particulares que involucran sólo a algunas biomoléculas. Así, para el estudio de distintas enfermedades genéticas complejas es necesario disponer de una lista completa de los genes participantes y luego estudiar sus interacciones. De este modo -debido a la gran cantidad de datos que se generan en cada experimento- el proceso de investigación científica se ha visto alterado: el clásico devenir “hipótesis, luego experimento” ha dejado de ser tal, ahora es posible -cuando no obligado- el camino inverso. [10]

Estrategias de estudio

Como en toda disciplina nueva, en nutrigenómica no está claro cuál es la mejor forma de estudiarla y entonces encontramos muy diversas propuestas. Para entender cualquiera de ellas es preciso tener presente el dogma central de la biología molecular: la información fluye desde el ADN al ARN y de éste a las proteínas. Además, debemos recordar que las proteínas controlan el proceso de replicación del ADN uniéndose a una secuencia específica del mismo y de este modo pueden activar o inhibir la transcripción de un gen determinado. [11]

Una de las propuestas para el estudio de la nutrigenómica es la clásica división de las enfermedades en monogénicas, cuando están determinadas por un solo gen y multifactoriales o poligénicas, cuando su expresión esta determinada por una combinación de varios genes y otros factores ambientales. [12]

Los resultados obtenidos en las enfermedades monogénicas parecen ser más convincentes que los relativos a las multifactoriales, ya que en principio, es más fácil la comprensión de las interacciones genéticas que determinan la expresión de esas enfermedades. Los ejemplos más claros de la forma en que las consecuencias de una alteración génica pueden compensarse con una modificación dietaria están dados por las enfermedades monogénicas; son los casos de la fenilcetonuria, tratada con un régimen bajo en fenilalanina y alto en tirosina, o la galactosemia tratada con un régimen sin galactosa.

De cualquier modo, no todos los individuos reaccionan igual a la manipulación dietaria de macronutrientes. Aún las enfermedades monogénicas clásicas evidencian muchas diferencias entre individuos aun con la presencia del mismo gen, por lo que la interacción con otros genes, agentes modificadores, factores ambientales, etc., también influyen en distintas direcciones. [13]

El Círculo de Innovación en Biotecnología de Madrid y la Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación, elaboraron un informe según el cual, el recuento de las variantes genéticas relacionadas con la dieta referidas a distintas enfermedades multifactoriales, muestran que los esfuerzos en investigación en esta temática se centran principalmente en la obesidad, seguidos de estudios en diabetes, las enfermedades cardiovasculares, metabolismo de los lípidos y cáncer.

Para apreciar la complejidad del estudio de este tipo de enfermedades basta tener presente algunas consideraciones con respecto a la obesidad, desorden multifactorial por excelencia, al que contribuyen múltiples factores genéticos y ambientales -los nutrientes en particular- así como la interacción entre ellos. [14]

Recordemos que la acumulación excesiva de grasa en un organismo resulta de un desequilibrio, sostenido en el tiempo, entre la ingesta y el gasto energético.

En el control de la ingesta se pueden describir dos sistemas de regulación, uno a corto y otro a largo plazo, de cuyo funcionamiento en forma separada así como de su integración depende que la ingesta sea la adecuada. [15] Las señales de adiposidad -proporcionales al tamaño de reservas grasas y por ende de control a largo plazo- funcionan, al menos en parte, modulando la efectividad de las señales de saciedad, que regulan el tamaño y la duración de las comidas individuales a corto plazo. La insulina y la leptina se han propuesto como señales de adiposidad: los cambios en sus niveles plasmáticos reflejarían cambios en el estado de reserva energética, frente a los cuales, el sistema nervioso central respondería ajustando la ingesta para restablecer el tamaño de los depósitos grasos. Ambas hormonas actúan a nivel central inhibiendo la ingesta y activando el gasto energético a través de cambios en la expresión de péptidos orexígenos y anorexígenos. Además, la leptina producida por el estómago, y liberada al lumen gástrico en respuesta a la ingesta de alimento, podría participar, junto con otros péptidos gastrointestinales como la colecistoquinina (CCK), en el control del tamaño de la ingesta en una vía mediada por vías vagales aferentes.

A su vez, las variaciones del gasto energético pueden ser el resultado de cambios en la actividad de procesos metabólicos muy diversos, incluida la actividad física voluntaria y la involuntaria, o de diversas condiciones fisiológicas que alteran el metabolismo basal. Uno de los procesos que -específica y fisiológicamente regulable- permite disipar energía en forma de calor, es la termogénesis adaptativa, un proceso que se activa en respuesta a estímulos ambientales como el frío, la ingesta excesiva o la infección. El mecanismo más conocido de la termogénesis adaptativa es el que opera en el tejido adiposo marrón. Su base molecular es la actividad de una proteína característica de los adipocitos marrones (UCP1), que es capaz de disipar como calor el gradiente de protones generado por la actividad de la cadena respiratoria, desacoplando así la oxidación de combustibles de la síntesis de ATP. [16]

Por otra parte, la acumulación de grasa resulta favorecida cuando se da una canalización preferente de los nutrientes hacia el tejido adiposo, en detrimento del músculo y otros tejidos, en los que el destino más inmediato es la oxidación. De hecho, son numerosos los resultados que apuntan a una conexión entre la obesidad humana y defectos genéticos que limitan la lipólisis y la oxidación de los ácidos grasos y estimulan la lipogénesis; ambas rutas metabólicas dependen además de la actividad de factores de transcripción, regulados por nutrientes y hormonas. [17]

Es interesante destacar una vez más, con el fin de comprender lo complejo que resulta el estudio de las enfermedades multifactoriales, que a los imbricados procesos mencionados se suma la variabilidad entre individuos en la concentración, estabilidad, actividad, etc., de los “mensajeros químicos” involucrados, que son en su inmensa mayoría de naturaleza proteica y por ende capaces de expresar fenotípicamente mutaciones del ADN de muy diversa magnitud, aún las más pequeñas como las que involucran a un solo nucleótido.

Otra propuesta de estudio es analizar tres grandes grupos conceptuales: las variaciones genéticas que condicionan necesidades particulares, las interacciones directas nutriente-gen y las interacciones epigenéticas.

Dentro del primer grupo, un ejemplo clásico es el que determina un aumento en el requerimiento de ácido fólico; se trata del polimorfismo del gen que codifica a la enzima 5,10 metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), que cataliza la reducción de 5-10-metilen-tetrahidrofolato (THF) a 5-metilTHF, cosustrato para la conversión de homocisteína a metionina. Este gen, ubicado en el brazo corto del cromosoma 1, presenta un SNP en el residuo 677 -Citosina (C) o Timina (T)- resultando en una alanina o una valina en la posición 233 de la secuencia aminoacídica. El genotipo TT se caracteriza por una reducción de la actividad de la enzima -de hasta un 50 %- que produce una acumulación de homocisteína sérica debido a una disminución de la eficacia de conversión de homocisteína a metionina. Los niveles sanguíneos elevados de homocisteína aumentan el riesgo de enfermedad cardiovascular, por lo que una ingesta aumentada de ácido fólico -al permitir la reducción de los niveles de homocisteína- beneficia a los individuos 677 TT. Así se explica cómo las recomendaciones que pueden ser adecuadas para unas personas pueden no serlo para otras. [18]

En el segundo grupo conceptual, cabe destacar la importancia de la interacción directa entre los ácidos grasos de la dieta y los genes. Esta interacción es trascendente en la génesis de las epidemias sanitarias del nuevo milenio: obesidad, insulinoresistencia, diabetes tipo 2, riesgo vascular y cáncer y constituye un claro ejemplo de la importancia de la nutrigenética en la consideración de estrategias globales de prevención. [19]

Los ácidos grasos se comportan como verdaderos factores de transcripción críticos para la expresión de una colección de genes involucrados en el metabolismo lipídico y el proceso de adipogénesis.

Así, los ácidos grasos saturados (AGS) propenden al sobreconsumo por acción sobre los mecanismos centrales del control alimentario a nivel hipotalámico y los centros vinculados al placer y permiso del sistema endocanabinoide. En ratas, se ha probado que los AGS determinan una regulación descendente del receptor largo de la leptina en el hipotálamo. Como una de las acciones fundamentales de la leptina es controlar el apetito, la disminución de su acción libera vías orexígenas y lipogénicas. También se ha demostrado que los AGS de cadena larga se relacionan con insuli-

norresistencia. El mecanismo más aceptado de cómo los AGS determinan insulinoresistencia a nivel intramio citario es por bloqueo del receptor de insulina que tiene como consecuencia una disminución de la codificación genética del receptor de glucosa Glut 4, generando insulinoresistencia e inflamación. Existe evidencia creciente de que los ácidos grasos vegetales hidrogenados (AGTrans) actúan en el mismo sentido peyorativo que los AGS.

Otro ejemplo de interacción directa nutriente-gen es el de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). Desde el punto de vista básico se demostró en ratas que los AGPI mejoran el síndrome metabólico a nivel genético, activando vías lipolíticas e inhibiendo vías lipogénicas. Los AGPI (n-6 y n-3) de la dieta disminuyen la acumulación de triglicéridos en el músculo esquelético y, potencialmente, en el cardiomiocito y la célula beta del páncreas y mejoran la insulino-sensibilidad, ejerciendo sus efectos mediante una coordinada supresión de la síntesis lipídica en el hígado -inactivando factores de transcripción-, un aumento de la oxidación grasa en hígado y músculo esquelético -actuando como ligandos activadores de PPAR α (receptores activados por proliferadores de peroxisomas alfa)-, y un incremento global del depósito de glicógeno. [20]

Con relación al tercer y último grupo, el de las interacciones epigenéticas, acordamos que la expresión génica puede verse modificada a lo largo de la vida de un individuo sin que haya alteraciones en la secuencia del ADN debido a lo que ha dado en llamarse cambios epigenéticos, fundamentalmente metilación del ADN y acetilación y metilación de las histonas. Estos patrones de modulación de la expresión génica (represión o expresión) mantenidos de forma estable a lo largo del tiempo e incluso con capacidad de ser transmitidos transgeneracionalmente constituyen el epigenoma. El ADN no metilado y las histonas con colas acetiladas permiten el ensamble de los factores de transcripción y de la actividad de la ARN polimerasa, indispensables para la transcripción. El resultado de la acción de la ADN metiltransferasa y de la histona desacetilasa hace que se condense la cromatina, volviéndola inaccesible a los factores de transcripción. De este modo, la regulación epigenética permite la expresión o represión estable de genes en las diversas líneas celulares y en los distintos estadios del desarrollo. Para ello es precisa una compleja maquinaria que permite que se mantenga en los sucesivos ciclos celulares, de tal forma que se preserve el epigenoma. Además de factores intrínsecos (metiltransferasas) inciden factores ambientales y nutricionales. La modificación en la disponibilidad de grupos metilo a través de la alimentación puede determinar cambios en la metilación de genes, la modificación de su expresión y transformaciones en el fenotipo, especialmente durante el desarrollo fetal y ciertos períodos críticos del desarrollo.

El ambiente prenatal puede influir en la fisiología postnatal. Estudios experimentales en varias especies de mamíferos demuestran que la manipulación del ambiente periconcepcional, embriológico, fetal o neonatal puede alterar las funciones cardiovasculares y metabólicas posteriores. La malnutrición materna durante la gestación desencadena una serie de adaptaciones metabólicas fetales -fenotipo ahorrador- que en la edad adulta aumentan el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares, hipertensión arterial, obesidad, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina y diabetes, especialmente en condiciones de sobrepeso energético. Hipotéticamente, el entorno nutricional fetal adapta al feto para sobrevivir a largo plazo en un entorno postnatal de similares características. Cuando este entorno difiere del de la vida adulta -la predicción es errónea-, las adaptaciones fetales resultan inapropiadas y como consecuencia se desarrolla la enfermedad. Es posible que existan ventanas temporales en las que las modificaciones nutricionales originen cambios permanentes. La regulación epigenética puede entenderse como una adaptación al entorno. [21]

El desarrollo de plasticidad provee a los organismos de la habilidad para cambiar su estructura y función en respuesta indirecta al ambiente, lo que permite un rango de fenotipos a desarrollar a partir de un solo genotipo. Esto ha llevado a la necesidad de promover la salud y la nutrición en mujeres en edad fértil como un elemento importante para la prevención de enfermedades crónicas. La epigenética analiza la disponibilidad de nutrientes para el producto, que aunque en períodos cortos, pero críticos, como en el desarrollo intrauterino, programa el metabolismo del individuo haciéndolo susceptible de tener enfermedades comunes en el futuro. Esta información sustenta un nuevo concepto, el denominado "rescate embrionario", que emerge como criterio para establecer los límites de consumo durante los períodos reproductivos. Algunos nutrientes, cuando se administran en ventanas temporales de susceptibilidad, pueden rescatar a embriones de defectos genéticos. La posibilidad de una intervención nutricional en períodos críticos del

desarrollo que determine una disminución del riesgo de padecer enfermedades como la obesidad en la edad adulta o la capacidad de modificar la expresión génica a través de la alimentación y con ello influir en diversos factores de riesgo cardiovascular y en la susceptibilidad genética a ciertas enfermedades constituye un interesante desafío. [22]

Otra propuesta para el estudio de la genómica nutricional es el análisis de las enfermedades comunes en sociedades tecnológicamente avanzadas pasibles de un abordaje nutrigenómico. Todavía no existen bases universalmente aceptadas para difundir consensos sobre intervenciones nutrigenómicas estandarizadas; sin embargo, pueden considerarse interesantes posibilidades surgidas de diferentes estudios.

Por ejemplo, con respecto a la hipertensión arterial, se sabe que la cantidad de angiotensina circulante (AGT) está asociada con la presión sanguínea. En la posición 6 del gen de la AGT se halló un SNP –Adenina (A) reemplazada por Guanina (G)- que modifica el nivel de AGT circulante. Un gran porcentaje -alrededor de un 60%- de los afro americanos tiene la variante A6A, y el resto son heterocigotas (A6G) u homocigotas G6G. Siguiendo las pautas del programa "Aproximaciones Dietéticas para Detener la Hipertensión" (DASH) los individuos con el genotipo A6A muestran una reducción de la presión sanguínea, pero la misma dieta es menos efectiva en la reducción de la presión sanguínea en individuos con los genotipos A6G o G6G. [23]

En relación con el cáncer y como ya hemos señalado, el gen que codifica la MTHFR es clave en las reacciones de metilación. Varios laboratorios han publicado que el polimorfismo C677T -que provoca la sustitución de alanina por valina en la secuencia peptídica- causa una disminución de la actividad enzimática y está asociado con la presencia de cáncer colorrectal y leucemia linfocitaria aguda. Una ingesta baja de folato, vitamina B12, vitamina B6 o metionina se asocia también con un mayor riesgo de cáncer entre aquellos con el genotipo TT. [24]

Otro ejemplo interesante, en este caso relacionado con las enfermedades cardiovasculares, es el del gen de la apoproteína A1 (Apo A1) que juega un papel central en el metabolismo lipídico y en el desarrollo de enfermedad coronaria. Se estudió, en mujeres, el polimorfismo del gen de la Apo A1 dado por el cambio de G por A en la posición 75; se halló que las pacientes con el genotipo GG se beneficiaban -incrementando las concentraciones de colesterol-HDL- con una baja ingesta de AGPI, mientras que las portadoras del alelo A (en homo o heterocigosis) lo hacían con una dieta con alta cantidad de AGPI. Con esta última también se beneficiaban -reduciendo marcadamente la concentración de triacilglicéridos (TAG)- las portadoras de un polimorfismo en el gen de PPAR α que determina la presencia de valina en la posición 162. [25]

En el mismo sentido, resulta de interés el análisis de los distintos fenotipos según la densidad y el tamaño de las partículas de lipoproteínas de baja densidad LDL. Los individuos con partículas de LDL densas y pequeñas (fenotipo B) tienen un riesgo mayor de padecer enfermedades coronarias que aquellos individuos con partículas de LDL más grandes y menos densas (fenotipo A), y se ha demostrado que los patrones de LDL están influenciados por el porcentaje de grasa de la dieta. Los estudios sugieren la existencia de tres genotipos distintos: un genotipo da lugar al fenotipo A, otro al B y un tercer genotipo que manifiesta un fenotipo A cuando los individuos siguen una dieta de contenido medio en grasa (32 %), pero que determina un fenotipo B cuando estos ingieren menor cantidad de grasa (10 %). Lamentablemente aún no se han podido establecer indicaciones claras para una intervención lipídica individual en función de los polimorfismos conocidos de los principales genes intervinientes, ya que diferentes combinaciones experimentales de estos polimorfismos han provocado variaciones contradictorias sobre el perfil lipídico. [26]

Queda claro que si bien la presencia de ciertos SNPs podría originar una concreta recomendación al individuo en cuanto a su alimentación, es indispensable tener presente la complejidad de las relaciones entre genes, nutrientes y rutas metabólicas. Así, una portadora del alelo que codifica Val162 en PPAR α a la que se recomendara una elevada ingesta de AGPI para disminuir sus cifras de TAG podría padecer como efecto adverso un descenso de su col-HDL en caso de ser homocigota para el alelo G en Apo A1.

La obesidad -otra de las enfermedades “de la civilización”- aun cuando en la mayoría de los casos, como ya dijimos es de origen poligénico o multifactorial, es pasible de un abordaje nutrigenómico si tenemos en cuenta, por ejemplo, que los individuos portadores del polimorfismo del gen PPAR γ 2 -que codifica un fenotipo Pro12Ala- frente a una ingesta elevada de carbohidratos poseen mayor riesgo relativo de obesidad.

Aspectos éticos, sociales y legales

Un ítem insoslayable cuando se trata el proceso de salud-enfermedad es la consideración de los aspectos éticos, legales y sociales.

La dieta personalizada es una de las aplicaciones de la investigación en genómica nutricional, pero hasta que la evidencia de la interacción nutrientes-genes sea más robusta, es cuestionable la provisión de una dieta en virtud del genotipo. [27]

Ahora bien, la pregunta que acecha a esta disciplina es: ¿cuándo se habrá alcanzado un nivel “lo bastante bueno”?; cuándo podremos decir que la nutrigenómica ha madurado suficientemente para que, más que existir un simple equilibrio entre pros y contras, los beneficios de la aplicación de esta ciencia superen de manera muy clara a los riesgos? La nutrigenómica se halla en una difícil situación en la que la superación de un umbral de conocimientos autorizaría teóricamente sus aplicaciones, pero no existe un consenso general sobre dónde se halla este umbral. Los conservadores del ámbito científico argumentan que el nivel de conocimientos es demasiado bajo para hablar de las interacciones entre nutrientes y genes. Los escépticos ante la tecnología critican el reducido número de genes analizados. Se ha argumentado que, si bien hay muchos motivos para el optimismo en el campo de la nutrigenómica, existen varias fuentes de incertidumbre científica. [28]

Este hecho, en sí mismo, no debería suscitar ninguna preocupación especial, dada la novedad del campo y la complejidad de los sistemas que se estudian, si no fuera porque existen presiones para desarrollar aplicaciones útiles de la nutrigenómica, además de poderosos intereses públicos y privados para que así sea. El apoyo a la investigación biológica busca una expansión del conocimiento sobre el mundo natural, pero también pretende alcanzar una transferencia a corto plazo del conocimiento científico a biotecnologías útiles y rentables.

A pesar que ya existen algunos tests en el mercado para ser usados por profesionales de la salud, no existe un marco legal que delimite su uso, por lo que deberían tomarse medidas para evitar el fraude. Por diversos medios se puede acceder a servicios y productos nutrigenómicos tales como recomendaciones dietéticas a partir de un perfil genético, tests de riesgo para distintas enfermedades, alimentos nutrigenómicos, etc. Será necesario un riguroso control que asegure credibilidad y fiabilidad. [29]

Los servicios de análisis nutrigenómicos existentes involucran ventas por Internet. Una persona puede comprar una prueba en línea, tomar un hisopo bucal para luego enviarlo a la compañía por correo. La compañía analizará la muestra biológica para buscar polimorfismos asociados con el metabolismo de nutrientes y con esto genera un reporte para el consumidor, donde se incluye un resumen de los genes analizados, los polimorfismos encontrados y una descripción de las interacciones gen-nutriente que puedan asociarse al riesgo de desarrollar una enfermedad, así como una lista de recomendaciones de alimentación para disminuir estos riesgos.

Uno de los dilemas en este tipo de servicios, es el acceso directo por el paciente, ya que puede dar lugar a una interpretación errónea de los resultados. Esto dispara otro interrogante: ¿quién debe administrar la información? ¿El médico? ¿El nutricionista? ¿El genetista? Lo ideal es que esta información sea dada al paciente por un grupo multidisciplinario que tome en cuenta todas las aristas del impacto que tenga esta información en el paciente, pero en ese caso cabe preguntarse ¿quién hace frente a los costos? Atendiendo a la desigualdad social y económica entre países, se va a producir una inequidad en el acceso a los beneficios extraídos de la investigación. Se percibe entonces una importante

brecha entre la capacidad diagnóstica y predictiva del conocimiento genómico por un lado, y la falta de intervenciones preventivas y terapéuticas por otro.

Posiblemente uno de los puntos más importantes de controversia sea la discriminación genética. La identificación de aspectos individuales del genotipo no solamente permite planear una intervención farmacológica o nutricional personalizada. También revela rasgos propios del individuo ocultos, ya sea a la sociedad o a él mismo. Cada persona tiene el derecho a decidir qué quiere saber, y qué quiere que los demás sepan de él.

Por otro lado, en el futuro, la información genética podrá utilizarse en la detección de poblaciones o grupos de riesgo para determinar la susceptibilidad individual a desórdenes de alta prevalencia, como enfermedades cardiovasculares, diabetes y cáncer, para así permitir aplicar medidas de prevención primaria y secundaria. [8] Pero ser clasificado en un grupo no es un acto neutral. Tanto el acto de clasificar como las consecuencias de una clasificación así, darán lugar a una nueva discusión social y ética. Una etiqueta del tipo “alto riesgo de enfermedad cardiovascular” o “alto riesgo de obesidad” podría ser empleada por las empresas para negar un trabajo, por un club social para negar el ingreso al mismo, o peor aún, el surgimiento de grupos que cambien la discriminación hacia un grupo étnico por la discriminación a un grupo genético. El tema de los seguros es otro de los inconvenientes. El tener acceso a esta información puede hacer que se nos niegue una póliza por el hecho de pertenecer a un grupo de “alto riesgo”. ¿Qué consecuencias tendrá para la póliza de seguro de vida el hecho de que el solicitante tenga una tendencia genética a las enfermedades cardiovasculares? ¿Qué consecuencias tendrá para el interesado el hecho de no observar una dieta que demore la aparición de la enfermedad? Todos estos temas todavía imprecisos llegarán algún día a los tribunales.

Otra controversia a resolver es la aplicación potencial del conocimiento acerca de genómica nutricional a los alimentos fortificados y a los alimentos funcionales. Uno de los problemas éticos con este tipo de productos, es que al considerarse alimentos, no pasan por el estricto control que pasa un fármaco para salir al mercado y hay un vacío legal que obligue a las empresas que los comercializan, a que demuestren su acción de beneficio sobre la salud mediante un protocolo establecido, como ocurre con los fármacos. Tampoco existe una obligación legal para realizar estudios de posibles efectos colaterales de estos productos. Esta falta de legislación ha hecho que aparezcan una serie de productos milagro, que ofrecen beneficios para la salud e inclusive la cura de enfermedades. [30]

CONCLUSIÓN

Si bien se vislumbra un futuro prometedor tanto en la prevención como en el tratamiento de enfermedades genéticas relacionadas con la alimentación, es necesario aclarar que en la actualidad la aplicación de los conocimientos alcanzados dista de ser una práctica cotidiana, tanto a nivel clínico como a nivel poblacional. Queda un largo camino por recorrer, que debemos cuidar se centre en el entorno científico antes de confluir con el entorno empresarial, para desarrollar aplicaciones verdaderamente fiables y conseguir una influencia determinante en la salud pública.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alonso de la Torre, S.R.; Miján de la Torre, A. 2010. Nutrición y genes. *Alim. Nutri. Salud* 17 (2): 4.
2. Collins, F.; Morgan, M.; Patrinos, A. 2003. The Human Genome Project: Lessons from Large-Scale Biology. *Science* 300 (5617): 286.
3. Human Genome Program, U.S. Department of Energy. 2008. *Genomics and Its Impact on Science and Society*. Primer 2008.
4. Temple, L.; McLeod, R.; Gallinger, S.; Wright, J. 2001. Defining Disease in the Genomics Era. *Science* 293: 807.
5. Godard, B.; Ozdemir, V. 2008. Nutrigenomics and personalized diet: from molecule to intervention and nutrigenetics. *Omics* 12(4): 227.
6. Jirtle, R.L.; Skinner, M.K. 2007. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nat Rev Genet* 8 (4): 253.

7. Chakravarti, A. 2001. Single nucleotide polymorphisms: to a future of genetic medicine. *Nature* 409: 822.
8. Gómez Ayala, A.D. 2007. La relación entre la alimentación, la salud y la genómica. *Offarm* 26 (4): 78.
9. Fergusson, L.R. 2009. Nutrigenomics approaches to functional foods. *J Am Diet Assoc* 109 (3): 452.
10. Ozdemir, V., Suarez-Kurtz, G., Stenne, R., Somogyi, A., Someya, T., Kayaalp, S.O., Kolker, E. 2009. Risk assessment and communication tools for genotype associations with multifactorial phenotypes: The concept of “edge effect” and cultivating an ethical bridge between omics innovations and society. *OMICS: Journal of Integrative Biology* 13(1): 43-62.
11. Crick, F.1970. Central dogma of molecular biology. *Nature* 227: 561.
12. Fernández, J.L.; Benito, J. 2008. Panorama actual de la Nutrigenética. ¿Esperanza o realidad? *Nutr. clín. diet. hosp.* 28 (3): 38.
13. Ridner, E.; Gamberale, M.C.; Aragona, S.H.; Basile, R.; Saad, G.; García, E.; Marsó, A.; Lozano, M.G. 2009. Nutrigenómica: revisión del estado actual y aplicaciones. *Actualización en Nutrición* 10 (2): 115.
14. Palou, A.; Bonet, M.L.; Picó, C.; Rodríguez, A.M. 2004. Nutrigenómica y obesidad. *Rev Med Univ Navarra* 48 (2): 36
15. Schwartz, M.; Woods, S.; Porte, D.; Seeley R.; Baskin, D. 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature* 404 (6778): 661.
16. Gutiérrez Reyes, J.; Meléndez Mier, G.; Zúñiga Rivera, A.; Serralde Zúñiga, A. 2006. Genómica nutricional y obesidad. *Revista de Endocrinología y Nutrición* 14 (4): 247.
17. Gil Hernández, A.; Aguilera García, C.; Gil Campos, M. 2007. Genética de la obesidad humana. *Nutr Clin Med* 1 (3): 163.
18. García-Vallejo, F. 2004. La genómica nutricional: un nuevo paradigma de la investigación de la nutrición humana. *Colomb Med* 35: 150.
19. Pisabarro, R. 2006. Nutrigenética y Nutrigenómica: la revolución sanitaria del nuevo milenio. Implicancias clínicas en síndrome metabólico y diabetes tipo 2. *Rev Med Urug* 22: 100.
20. Uauy, R.; Martínez, J.; Rojas, C. 2000. Nutrición molecular, papel del sistema PPAR en el metabolismo lipídico y su importancia en obesidad y diabetes mellitus. *Rev Méd Chile* 128: 437.
21. Silveira Rodríguez, M.; Piñeiro Muñoz, L.; Carraro Casieri, R. 2007. Nutrigenómica, Obesidad y Salud Pública. *Rev Esp Salud Pública* 81: 475.
22. Bollati, V.; Baccarelli, A. 2010. Environmental epigenetics. *Heredity* 105 (1): 105.
23. Svetkey, L.; Moore, T.; Simons-Morton, T.; Apple, L.; Bray, G.; Sacks, F. 2001. Angiotensinogen genotype and blood pressure response in the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) study. *J Hypertens* 19 (11): 1949.
24. Molloy, A.; Scott, J. 2001. Folate and prevention of disease. *Public Health Nutr* 4: 601.
25. Kelly, D.P. The pleiotropic nature of the vascular PPAR gene regulatory pathway. 2001. *Circ Res.* 89 (11): 935.
26. Krauss, R. 2001. Dietary and genetic effects of LDL heterogeneity. *World Rev Nutr Diet* 89: 12.
27. Godínez-Martínez, J.L. 2010. Nutrigenómica: nuevas implicaciones éticas, en: García Luna y González Rubio M., Esquivel Chirino C., Esquivel Soto J., Madrigal Santillán E.O., Morales González J.A. y Godínez Martínez J.L. (Eds). *Ética, bioética y conocimiento del hombre. Tercer Fascículo. UAEH. UNAM. Universidad de Morelia.*
28. Castle, D. 2006. La calidad científica en la nutrigenómica. *Fundación Medicina y Humanidades Médicas. Colección de Monografías Humanitas* 9 (Art.6): 87-96.
29. Bergmann, M; Görman, U; Mathers, J. 2008. Bioethical Considerations for Human Nutrigenomics. *Annu. Rev. Nutr.* 28: 447.
30. Muñoz Ruiz, E. 2006. La nutrigenómica desde la perspectiva del consumidor. *Fundación Medicina y Humanidades Médicas. Colección de Monografías Humanitas* 9 (Art.5): 71.

LOS COMPLEMENTOS DE LA LECHE MATERNA EN LA NUTRICIÓN DEL NIÑO PREMATURO

Pita Martín de Portela, María Luz¹* y Vecchiarelli, Carmen²

¹ Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Junín 956 2p (1113) CA Buenos Aires.

²Servicio de Neonatología. Sanatorio Otamendi. Ciudad Autónoma de Buenos Aires

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

INDICE

Resumen	18
Abstract	19
Introducción: Necesidades de nutrientes del niño prematuro	19
Alimentación con leche materna	21
Recomendaciones de ESPGHAN sobre alimentación de niños de pretérmino	21
Fortificadores de la leche materna	23
Requerimientos e Ingestas recomendadas de hierro en el recién nacido de pretérmino	25
Biodisponibilidad del hierro agregado a las fórmulas lácteas	26
Efectos adversos del agregado de hierro	27
Controversias acerca del agregado de hierro a la leche materna	9
Lípidos y ácidos grasos esenciales: requerimientos e ingestas recomendadas	30
Complementos con agregado de hierro y ácidos grasos esenciales: ventajas y desventajas.....	31
Conclusiones	32
Referencias bibliográficas	33
Agradecimientos	36

RESUMEN

Los recién nacidos pre término (RNPT) nacen con un peso inferior a los nacidos a término y deben presentar un ritmo de crecimiento postnatal que les permita alcanzar la composición de un feto normal de la misma edad postconcepcional y lograr una buena salud en la adultez. Para ello, se debe instaurar una adecuada nutrición temprana, que aporte cantidades de nutrientes varias veces superiores a la de los recién nacidos a término lo cual optimizará el neurodesarrollo y evitará complicaciones durante el período hospitalario. La leche de la propia madre se debe incorporar lo antes posible por sus múltiples beneficios nutricionales, inmunológicos, neuromadurativos y psicofísicos, constituyendo, sin duda, el alimento ideal para el adecuado crecimiento, desarrollo y salud del niño. Sin embargo, los RNPT con peso inferior a 1500 g, alimentados exclusivamente con leche humana presentan deficiencias nutricionales durante y más allá del período hospitalario, e inadecuada tasa de crecimiento. Por ello, los prematuros de muy bajo peso de nacimiento, aunque reciban leche materna, deben ser suplementados con alguna fórmula que cubra los requerimientos nutricionales de esta etapa del crecimiento y permita completar los depósitos corporales equivalentes a los que se incrementan "in útero" durante el tercer trimestre del embarazo. En la actualidad, la industria farmacéutica ofrece varias opciones de fortificadores, con algunas semejanzas de composición entre ellos, aunque existen discrepancias en cuanto al agregado de hierro y ácidos grasos poli insaturados a los complementos de leche materna. Por lo tanto, en la práctica,

el pediatra puede enfrentarse con la disyuntiva de elegir entre fórmulas comerciales que contienen o no dichos nutrientes. En este sentido se deben considerar las características clínicas del RNPT y la posibilidad que brinda la industria farmacéutica para elaborar un complemento que proporcione los nutrientes necesarios en cantidad y calidad para cubrir las expectativas.

Palabras clave: complementos de la leche materna, Nutrición, niño prematuro

ABSTRACT

Preterm infants are born with low birth weight and impoverished nutrient reserves. Besides, they are subject to additional metabolic stresses compared with term infants. Therefore, they would achieve growth similar to foetal growth coupled with satisfactory functional development and would receive quantity of nutrients several times higher than those term birth infants. Although maternal breast milk is the recommended form of enteral nutrition for preterm or low birth weight infants, it does not cover the needs of premature infants. Guidelines for enteral feedings in premature infants were issued by the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Committee on Nutrition, but, in practice, these guidelines are difficult to follow because they suggest high nutrients intakes. Therefore, it is convenient for premature infants to receive milk from their mothers supplemented with designed multinutrient fortifiers to achieve growth similar to foetal growth and satisfactory functional development. Strategies developed to fortify human milk may also improve the nutrient supply of enterally fed preterm neonates. Commercially available human milk fortifiers have similar composition except that there is a controversy regarding the addition of iron and docosa hexaenoic acid. Pediatricians should know the benefits and disadvantages of the commercially available human milk fortifiers in order to achieve the optimal evolution of the preterm infants.

Key words: human milk complements, Nutrición, niño prematuro

INTRODUCCIÓN: NECESIDADES DE NUTRIENTES DEL NIÑO PREMATURO

El déficit nutricional en la embarazada genera elevada morbimortalidad materno fetal. Tanto el momento como el periodo de tiempo en el que se produce son determinantes para el resultado perinatal expresado como restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), bajo peso y prematuridad (1). Los progresos en el cuidado prenatal y las medidas de prevención, disponibles en los últimos años, no lograron evitar estas situaciones, que continúan siendo problemas de gran importancia en países en desarrollo (2).

Los recién nacidos prematuros (RNPT) nacen con un peso inferior a la de niños nacidos a término, presentan un ritmo de crecimiento postnatal diferente que debe permitirles alcanzar la composición de un feto normal de la misma edad postconcepcional. Además, el niño prematuro presenta mayor susceptibilidad a infecciones y la cantidad de nutrientes que debe recibir es varias veces superior a la de los recién nacidos de término (RNT) (3). Los RNPT, deben recibir un aporte de nutrientes que permita completar los depósitos corporales que, en un embarazo normal, se incrementan "in útero" durante el tercer trimestre. Por lo tanto, es de gran importancia jerarquizar el soporte nutricional para lograr el ritmo de crecimiento y composición de un feto normal a la misma edad postconcepcional o similar al tercer trimestre de gestación con la calidad, cantidad y tipo de nutrientes que favorezcan el crecimiento postnatal (4).

La nutrición temprana, en neonatología, es esencial para mantener una adecuada masa corporal y densidad ósea, optimizar el neurodesarrollo, prevenir complicaciones y lograr una buena salud en la adultez (5).

Por su condición de prematuridad, en el RNPT son especiales las demandas de energía y los requerimientos de proteínas, ácidos grasos esenciales, diversos minerales (calcio, fósforo, sodio, hierro, zinc) y vitaminas. Es particular-

mente importante tener en cuenta que los lípidos, en el tejido cerebral, son fundamentales no sólo para la estructura y función de membranas neuronales y gliales, sino también como principales constituyentes de la mielina. La deficiencia de ácidos grasos esenciales y de cadena larga durante la etapa pre y post natal, disminuye el peso cerebral y produce cambios en la composición de la mielina, del tejido cerebral y las membranas celulares (6).

En los RNPT el estado nutricional y la velocidad del crecimiento, son marcadores relevantes de salud. Es importante individualizar a cada RNPT ya que todos no cumplen con un determinado ritmo de aumento de peso, estatura y perímetro cefálico (7).

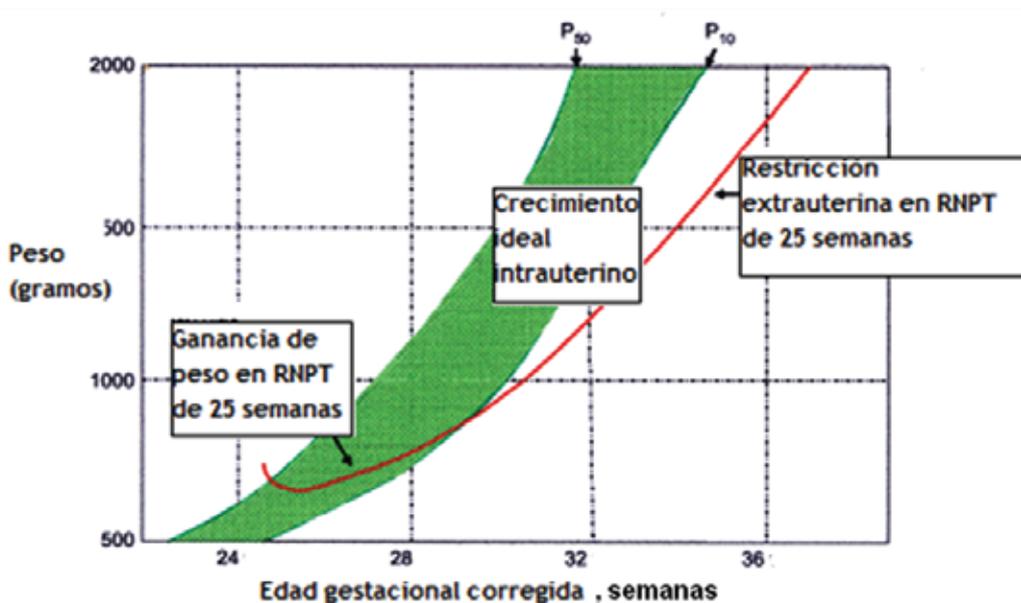
La nutrición fetal normal es la referencia para la nutrición postnatal en los niños prematuros; el feto requiere aportes elevados de macronutrientes en especial proteínas (3.8 gr/kg/d), glucosa (10 gr/kg/d) y lípidos (4gr/kg/d) (8).

Se pueden mencionar diferentes etapas en relación a los aportes nutricionales: una etapa inicial, con nutrición parenteral y nutrición enteral mínima. Otra etapa Intermedia con aporte enteral con leche humana fortificada (LHF) y/o leche de fórmula para prematuros (LFP) y, finalmente, la etapa post alta que implica succión, pecho, LHF y leche post alta (LPA) (9).

El aporte proteico precoz es fundamental para evitar el balance nitrogenado negativo. Sin embargo, a pesar de considerar la nutrición temprana parenteral y enteral, los RNPT presentan restricción del crecimiento extrauterino o post natal que, durante las primeras semanas de vida, es un indicador de severo déficit nutricional. El mayor riesgo es en menores de 1500 g con especial manifestación en los menores de 1000 g. y en los pequeños para edad gestacional quienes presentan alteración del crecimiento a largo plazo (10,11).

En la figura 1 observamos la correlación entre edad gestacional y peso al nacer, considerando como ideal el crecimiento intrauterino entre el percentilo 10 y 50. Se ha observado que un prematuro que nace con menos de 25 semanas transcurre su evolución y llega a las 36 semanas alejándose del percentilo 10, independientemente de que haya recibido las mejores pautas nutricionales.

Figura 1
Restricción de crecimiento extrauterino en el RNPT (Adaptado de ref. 5)



En este grupo etéreo es dificultoso alcanzar los aportes calórico-proteicos ideales, debido a las frecuentes interrupciones por diferentes interurrencias, lo cual implica un déficit nutricional que transcurre durante la internación en la unidad de cuidados intensivos neonatales y que en el momento del alta resulta difícil de recuperar. Los RNPT presentan un déficit calórico proteico durante el transcurso de los días de internación (12).

ALIMENTACIÓN CON LECHE MATERNA

La leche de la propia madre se considera de indiscutible valor nutricional e inmunológico y se debe incorporar lo antes posible por sus múltiples beneficios: nutricionales, inmunológicos, neuromadurativos y psicofísicos que fortalecen el vínculo madre-hijo-familia. Por ello constituye, sin duda, el alimento ideal para el adecuado crecimiento, desarrollo y salud del niño.

Sin embargo, los RNPT con peso inferior a 1500 g, alimentados exclusivamente con leche humana presentan deficiencias nutricionales durante y más allá del período hospitalario, e inadecuada tasa de crecimiento (4).

Las características de la leche humana, en especial las del calostro son particularmente de excelencia. Si bien la leche humana es considerada como lo mejor, debe tenerse en cuenta que la mayor acreción de macro y micronutrientes se produce en el último trimestre de gestación. Los RNPT son una población que requiere un mayor aporte proteico y energético, de calcio (Ca), de hierro (Fe), de zinc (Zn) y de ácidos grasos esenciales (AGE). Por lo tanto, se debe recurrir a la fortificación de la leche humana para lograr, de este modo, aumentar el aporte calórico y el de macro y micronutrientes.

RECOMENDACIONES DE ESPGHAN SOBRE ALIMENTACIÓN DE NIÑOS PRETÉRMINO

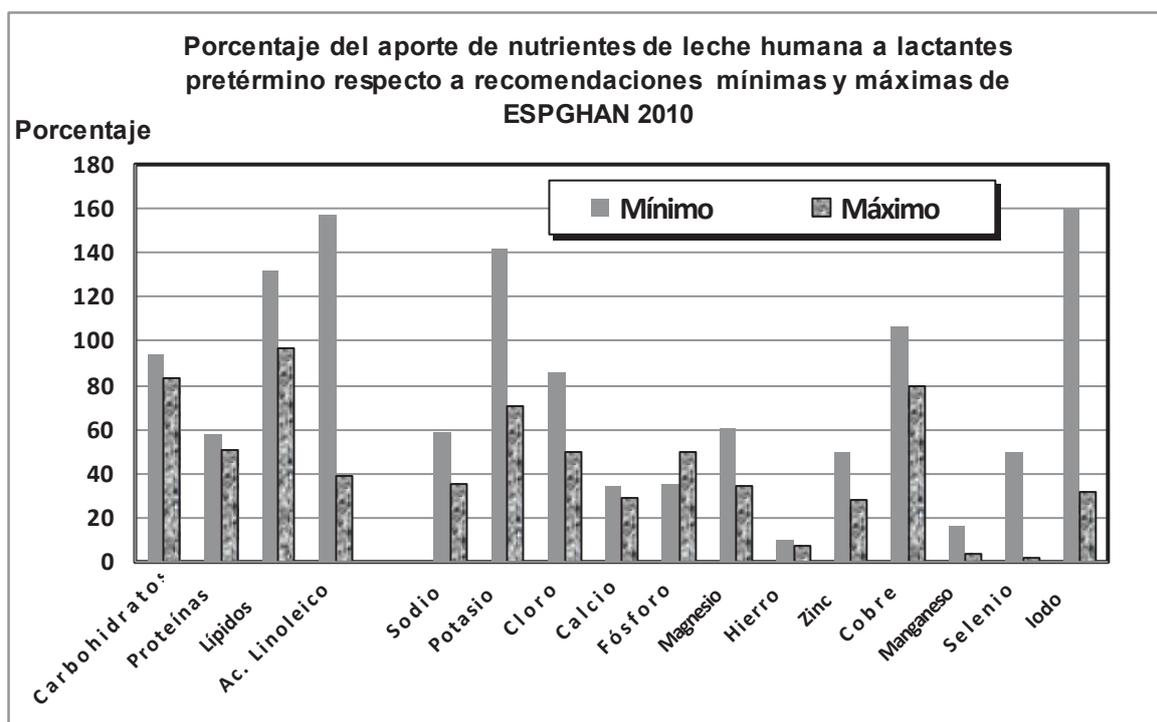
En 1987 la ESPGHAN (European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition) publicó recomendaciones sobre nutrición y alimentación de niños pretérmino (13), a pesar de la existencia de otras revisiones anteriores sobre el tema. Posteriormente, se revisaron las recomendaciones publicadas en marzo de 2007, con objeto de proporcionar guías sobre la cantidad y calidad de nutrientes necesarios para los niños pretérmino, de peso cercano a 1800 g, para alcanzar un crecimiento similar al fetal asociado a desarrollo funcional satisfactorio. No se hicieron recomendaciones para niños de peso inferior a 1000 g debido a la falta de datos en relación a la mayoría de los nutrientes, excepto para necesidades de proteínas. Tampoco se hicieron recomendaciones para necesidades en enfermedades específicas (por ej. displasia broncopulmonar, enfermedad cardíaca congénita o síndrome de intestino corto) ni para los que reciben nutrición parenteral (7).

Un meta análisis publicado por Cochrane que incluyó 10 estudios controlados aleatorizados (más de 600 recién nacidos con peso al nacer menor de 1850 g), señaló que *la fortificación de la leche materna con multicomponentes en relación a la leche humana exclusiva presentaba una ventaja estadísticamente significativa a corto plazo en la ganancia de peso, crecimiento lineal y crecimiento cefálico, sin eventos adversos significativos*. Por lo tanto, concluyó que la fortificación de leche humana con multinutrientes en prematuros es una estrategia apropiada en la práctica común en la unidad de cuidados intensivos neonatal para corregir el déficit de nutrientes que se produce con la alimentación con leche humana no fortificada. La eficacia de esta medida a corto plazo es medible por los índices antropométricos, el estado nutrición proteico y el balance nitrogenado (14).

En la tabla del anexo puede observarse que la leche materna aporta insuficiente cantidad de proteínas, minerales (sodio, magnesio, calcio, fósforo, hierro, zinc y manganeso) y de todas las vitaminas. El contenido de selenio, iodo y vitamina A es sumamente variable en función de la zona geográfica y la alimentación materna.

En la figura 2 se ha representado el porcentaje del contenido de los principales nutrientes en la leche materna en relación a las recomendaciones de ESPGHAN (15).

Figura 2



Si bien no se han comprobado ventajas estadísticamente significativas entre la leche humana fortificada y la leche de fórmula para prematuros en relación con la ganancia de peso, se debe jerarquizar la posibilidad de aportar leche humana por sus otras ventajas. Ofrece una alta biodisponibilidad del hierro y una relación calcio/fósforo (2:1) que favorece la absorción de estos minerales. Presenta un adecuado aporte de ácidos grasos de cadena larga, de gran importancia para el desarrollo cerebral y que favorecen el neurodesarrollo de los RNPT (16).

Por ello, los prematuros de muy bajo peso de nacimiento, aunque reciban leche materna, deben ser suplementados con alguna fórmula que cubra los requerimientos nutricionales de esta etapa del crecimiento y permita completar los depósitos corporales que se incrementan *“in útero”* durante el tercer trimestre del embarazo (2). En la actualidad, la industria farmacéutica ofrece varias opciones de fortificadores, con composición muy semejante, aunque pueden existir algunas variaciones entre ellos.

En la tabla 1 figuran las necesidades de proteínas que permiten un aumento de peso similar al del feto de la misma edad gestacional.

Tabla 1 (Adaptada de ref 17)
Ingesta estimada de Proteínas para conseguir el aumento de peso fetal

Peso corporal (g)	Aumento de peso fetal		Ingesta estimada de Proteínas (g) (N x 6,25)		
	(g/día)	g/kg/día	Pérdida insensible	Crecimiento	Ingesta necesaria enteral
500-700	13	21	1,0	2,5	4,0
700-900	16	20	1,0	2,5	4,0
900-1.200	20	19	1,0	2,5	4,0
1.200-1.500	24	18	1,0	2,4	3,9
1.500-1.800	26	16	1,0	2,2	3,6

FORTIFICADORES DE LECHE HUMANA

Los fortificadores de leche humana son un suplemento de multicomponentes, que mejoran a corto plazo el crecimiento en ganancia de peso, estatura y perímetro cefálico, e incrementan el contenido mineral y el balance nitrogenado, sin observar efectos adversos a corto y largo plazo. Se incorporan cuando el aporte de leche materna es entre 50 a 100 ml /kg/día (18).

En 1984, se comenzaron los estudios para incrementar las concentraciones de proteínas, lípidos, vitaminas, minerales y elementos trazas en la leche humana, dando por resultado la creación del primer fortificador (3).

A lo largo del tiempo se ha tratado de enriquecer la leche humana con diferentes módulos nutricionales. La intensa investigación de las últimas décadas, ha permitido el diseño de fórmulas especiales para prematuros y fortificadores para la leche humana que posibiliten un crecimiento de estos niños cercano a lo propuesto como ideal, es decir, al crecimiento intrauterino. Existen formulaciones especiales o *fortificadores de la leche humana* cuyo objeto es mejorar a corto plazo el crecimiento (ganancia de peso, estatura y perímetro cefálico), incrementar el contenido proteico y mineral sin manifestar efectos adversos. Estas fórmulas deben usarse durante el período intrahospitalario y según las características de cada prematuro y su evolución hasta los 3, 6 o 9 meses de edad corregida. La incorporación de multicomponentes, a pesar de establecer mínimos cambios en la osmolaridad (19), el vaciamiento gástrico (20) y algunas propiedades inmunológicas, parece ser la mejor opción para mejorar el crecimiento a corto plazo, el índice de masa corporal, el metabolismo fosfo-cálcico y el neurodesarrollo.

A pesar de las prolongadas internaciones promover, mantener y almacenar la leche materna es fundamental, ya que posibilita luego del alta que los prematuros continúen con lactancia y reciban complemento de leche humana fortificada (2). En caso de no lograr el suficiente almacenamiento de leche humana, se recurrirá a leches de fórmula especialmente diseñadas para los prematuros luego del alta.

Uno de los componentes inicialmente estudiados fueron las proteínas. Brumberg y col. estudiaron 23 RNPT de peso inferior a 1250 g que presentaban mal progreso de peso (< 15 g /d).y comprobaron que el aporte enteral de proteínas y energía mejoró significativamente la ganancia de peso comparado con energía solamente. A partir de 14 días, recibieron más del 75% de aporte enteral de LHF o LF, divididos en dos grupos: 12 recibieron energía proveniente de ácidos grasos de cadena media vs 11 con fortificación y energía .El grupo que recibió 3.5 g de proteínas logró mayor crecimiento ($17,4 \text{ g} \pm 4,8 \text{ g/d}$), comprobando la importancia del aporte de proteínas para promover el crecimiento (21).

La suplementación proteico-energética permite lograr una tasa de crecimiento de 15 g/kg/día, que es ideal, aunque ligada a un costo energético de crecimiento estimado en 5-6 kcal por gramo de peso ganado.

Una inquietud similar surgió para los requerimientos de calcio y fósforo, por lo que se crearon opciones como el glicero-fosfato de calcio y algunos compuestos orgánicos que exhiben completa solubilidad, aún a altas concentraciones. Progresivamente, se logró perfeccionar la integración de macro y micronutrientes hasta obtener fortificadores de alta calidad, con la capacidad de resolver las carencias esperadas por historia natural en los prematuros, surgieron así diversos complementos de la leche materna para optimizar la recuperación nutricional (21).

Cuando se decide utilizar un fortificador, debe evaluarse la edad y condición clínica del niño y la composición de los nutrientes que lo integran. Líderes mundiales en el tema de nutrición, como la European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Committee on Nutrition, recomiendan el uso de la leche humana fortificada en RNPT como práctica estándar (8,15).

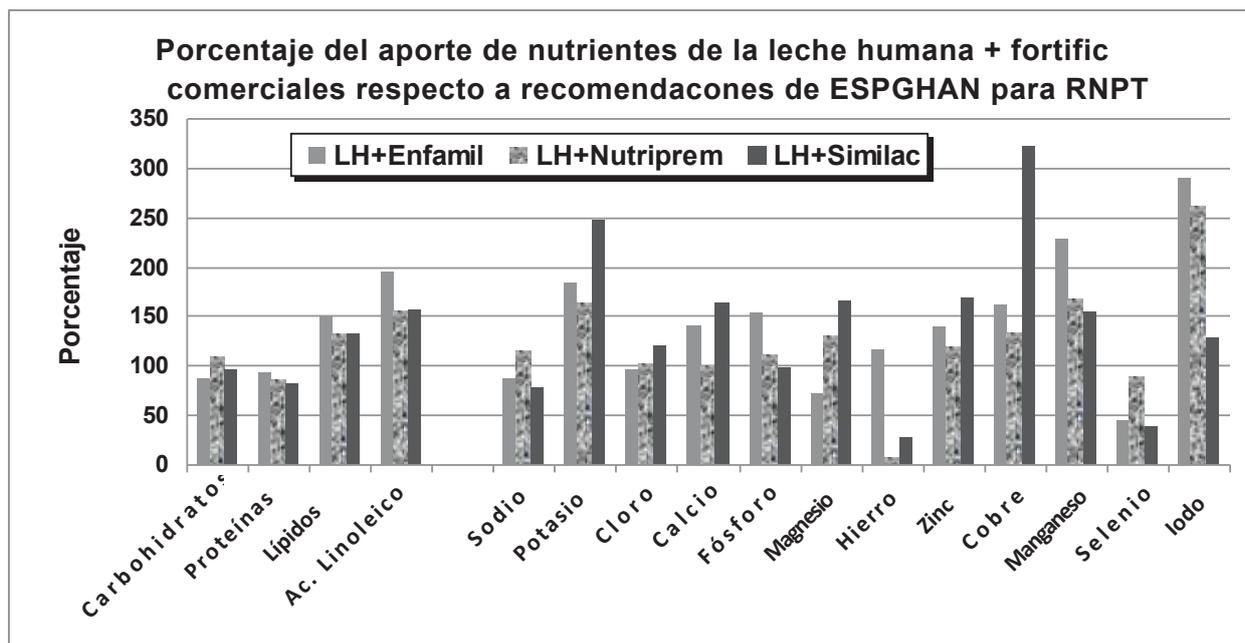
En el mercado argentino se comercializan los siguientes fortificadores de la leche materna pretérmino:

- Nutriprem (Nutricia Bagó): sobres de 2,15 g
- Enfamil: (de Mead Johnson): sobres de 0,71 g
- Similac: (Abbott) sobres de 1;8 g

En la Tabla del anexo se presentan los aportes de nutrientes por 100 Kcal de cada una de las preparaciones de 50 mL de leche materna con el agregado del fortificador.

En la figura 3 se ha representado el porcentaje de aporte de los macronutrientes y minerales de los preparados de leche humana con el agregado de cada uno de los fortificadores del mercado argentino en relación a las recomendaciones mínimas de **ESPGHAN 2010**.

Figura 3



<Los diferentes fortificadores agregados a la leche materna modifican el aporte de los siguientes nutrientes:

- Mejoran el aporte proteico, aunque ninguno alcanza el límite inferior del rango aconsejado por **ESPGHAN 2010**.

- Mejoran, en cantidades variables, el aporte de minerales. En el caso del sodio, solo uno alcanza el límite inferior del rango aconsejado por **ESPGHAN 2010**.

- En el caso del cobre, algunos superan el límite superior de las recomendaciones de **ESPGHAN 2010**, lo cual podría generar efectos adversos debido a la inmadurez del prematuro y ser por lo tanto contraproducente.

- Un caso particular lo constituye el hierro, sobre el que existen controversias acerca de la conveniencia de su agregado en los fortificadores de la leche materna.

- Mejoran, en cantidades variables, el aporte de vitaminas, alcanzando en general las recomendaciones de **ESPGHAN 2010**.

- Existen discrepancias en cuanto al agregado de hierro y ácidos grasos poli insaturados (PUFA) a los complementos de leche materna y en la práctica el pediatra puede enfrentarse con la disyuntiva de elegir entre fórmulas comerciales que contienen o no dichos nutrientes. En este sentido se deben considerar las características clínicas del

RNPT y la posibilidad que brinda la industria farmacéutica para elaborar un complemento que proporcione los nutrientes necesarios en cantidad y calidad para cubrir las expectativas.

REQUERIMIENTOS DE HIERRO E INGESTAS RECOMENDADAS EN NIÑOS PRETÉRMINO

El hierro es un micronutriente mineral esencial, componente de la hemoglobina y mioglobina, y necesario en todas las células para el metabolismo energético y oxidativo (22).

El hierro funcional representa entre el 70 a 95 % del hierro total corporal, ocupando, en su mayor parte, la posición central de un anillo porfirínico de hemo-proteínas. Su principal función es el transporte y almacenamiento de oxígeno (hemoglobina circulante y mioglobina muscular). Una mínima proporción forma parte de enzimas hemínicas (citocromos, catalasa, peroxidasa, etc.), no hemínicas (flavo-proteínas, NADH, xantino-oxidasa, etc.) y de otros sistemas enzimáticos. Algunos de ellos son esenciales para el desarrollo cerebral, y explican la asociación de la deficiencia de hierro en niños con alteraciones del SNC, por lo cual es fundamental prevenir su deficiencia en la infancia (23, 24).

La cantidad total en el humano varía ampliamente según el tamaño corporal y la cantidad almacenada. El hierro no se encuentra libre en plasma y circula unido a una proteína lábil, la transferrina. El hierro de reserva es muy variable (5-30 % del total) está unido a proteínas (ferritina y hemosiderina) en hígado, bazo, médula ósea y sistema retículo endotelial y es movilizado cuando las demandas no son cubiertas por la ingesta (25).

La deficiencia de hierro conduce a la utilización de sus depósitos y depleción progresiva, afectando en distinto grado las funciones Fe-dependientes; la sintomatología clínica se caracteriza por astenia, anorexia, fatiga y deterioro del rendimiento físico. Cuando las reservas se agotan se manifiesta anemia microcítica hipocrómica, palidez de las mucosas y los signos clínicos acentuados. Concomitantemente, hay aumento de la predisposición a las infecciones y alteraciones de la respuesta inmune (26) y de las funciones neurológicas (27).

Se define anemia como “disminución de la masa de glóbulos rojos o de la concentración de hemoglobina por debajo del segundo desvío estándar respecto de la media para edad y sexo” Sobre la base de esta definición se diagnosticarán como anémicos un 2,5% de niños normales). La anemia de la prematuridad es aquella que aparece asociada al RNPT (generalmente <32 semanas) y es típicamente normocítica, normocrómica e hiporregenerativa (28).

El mayor depósito de Fe en el feto tiene lugar en el tercer trimestre del embarazo, mientras que se desconoce la cantidad existente en los niños pretérmino, la que va a depender de la edad gestacional. Durante el desarrollo fetal el hierro es transportado activamente por proteínas específicas desde la madre al feto promediando 1.6-2mg/kg/día. Se estima el contenido fetal de hierro al nacer en 75 mg/kg (25).

Múltiples factores determinan la anemia de la prematuridad, entre ellos: la edad gestacional, las prolongadas internaciones, las múltiples extracciones de sangre, los episodios infecciosos, periodos de ayuno y cirugías. Es de destacar que no se utiliza el aporte de hierro vía parenteral y que la incorporación se realiza por vía oral cuando el niño tiene un adecuado aporte enteral. Por cierto, durante la primera etapa y según la morbilidad que presenten estos pacientes requieren una o mas transfusiones que contribuirán a incrementar los depósitos de hierro. Para compensar esas pérdidas se suele recurrir a transfusiones que representan 8 mg de Fe por 20 mL de glóbulos rojos sedimentados.

El Comité de ESPGHAN aconseja la utilización de la leche materna para los niños pretérmino como práctica estándar. Sin embargo, la leche materna tiene muy bajo contenido de hierro, pero por su elevada biodisponibilidad (40-60%), junto con el hierro de depósito, cubre las necesidades en el nacido a término, pero no en el pretérmino. Por ello es necesario recurrir a fortificadores para cubrir las necesidades o a uso de suplementos orales que permiten dosificar la cantidad a administrar y evitar los efectos adversos del exceso (8).

Un meta-análisis de los estudios publicados antes de 1992 evidenció que la suplementación profiláctica de Fe

en niños pre-término reducía la incidencia de anemia a los 6 meses, utilizando dosis de 2 mg/kg/día. Otros trabajos han comparado diferentes dosis de Fe. Hall et al (29) administró 0,3 or 1,3 mg/kg/d a niños con un peso promedio de 1,4 kg. Aún con mayores dosis 1/3 de los niños mostraron niveles bajos de Hb. Friel et al (30) estudiaron RNPT con de un peso promedio 1,46 kg, administró 5,9 vs. 3,0 mg/kg/d al alta y 3 vs. 2 mg/kg/d durante 3-9 meses, no encontrando diferencia significativa entre los 2 grupos en la incidencia de anemia ni en el desarrollo neurológico a los 12 meses, pero en el grupo con Fe alto encontró niveles más altos de glutatión peroxidasa (marcador de estrés oxidativa), menores niveles plasmáticos de Zn y de cobre (Cu) y mayor prevalencia de infecciones del tracto respiratorio, sugiriendo un posible efecto adverso del hierro.

Franz et al estudiaron 204 niños pretérmino, de un peso promedio de 870 g. No encontraron diferencias en el Hto ni en la ferritina sérica al comparar un grupo que recibió 2-4 mg/kg/d de hierro de suplementos desde las 2 semanas de vida hasta los 2 meses de edad con un grupo que no recibió Fe, pero que habían recibido transfusiones (31).

Los prematuros sanos deben recibir aportes de hierro desde el primer mes de vida hasta que tomen alimentación complementaria rica en hierro. Se aconseja una dosis de 4 mg/kg/día si el peso al nacimiento fue inferior a 1500 g y de 2 - 4 mg/kg/día si el peso fue mayor de 1500 g (mayor dosis a menor edad gestacional). Según la recomendación de la SAP los RNT deberán recibir antes del 4to mes de vida 1 mg/kg/ día de Fe; los en RNPT (1.500-2.500 g) 2 mg/kg/día, antes del 2 mes de vida; en RNPT de muy bajo peso (750-1.500 g) 3-4 mg/kg/día, durante el primer mes de vida y en RNPT de peso extremadamente bajo (<750 g): 5-6 mg/kg/día, comenzar durante el primer mes de vida (28).

PrevInfad (32) al igual que otros grupos como la American Association of Pediatrics (33) o la ESPGHAN, recomienda una ingesta mínima de hierro de 2 mg/kg/día, que se consigue con las fórmulas artificiales que tengan un contenido de hierro igual o superior a 12 mg/L (29).

La suplementación profiláctica de hierro por vía enteral, ya sea como suplemento o incorporado en fórmulas o en complementos de la leche humana podría comenzar a las 2-6 semanas de edad (2-4 en niños pretérmino). Los niños que reciben eritropoyetina y aquellos que tienen pérdidas no compensadas requieren mayor dosis como suplemento.

CONTROVERSIAS ACERCA DEL AGREGADO DE HIERRO A LOS FORTIFICADORES DE LA LECHE MATERNA.

Las dosis de hierro enteral mayores a 5 mg/Kg deben evitarse en niños pretérmino debido al riesgo de posible retinopatía asociada a prematuridad. La suplementación con Fe debe ser evitada si los niños reciben múltiples transfusiones y tienen elevados valores de ferritina (34).

Si los recién nacidos prematuros no pueden ser alimentados con leche materna existen fórmula para prematuros que pueden contener entre 8 y 14,6 mg de hierro /L. Sin embargo, pese a recibir aproximadamente 1,5 a 2,2 mg/kg/día de hierro con la fórmula, se estima que el 14% de los recién nacidos prematuros desarrollarán ferropenia entre los 4 y 8 meses de edad.

En contraste con otros nutrientes no hay un mecanismo de excreción que proteja del exceso de hierro. El hierro es un potente pro-oxidante y su exceso puede producir aumento del riesgo de infección, disminución del crecimiento y de la absorción de otros minerales esenciales como el zinc, por lo cual se aconseja no exceder 15 mg/día (35).

El diagnóstico de anemia se suele basar en las determinaciones de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto) y recuento de glóbulos rojos, de fácil realización y rutinarias en el Laboratorio de Análisis Clínicos, pero que se ven afectadas por las variaciones en el volumen plasmático y por la deficiencia proteica, debido al déficit de transferrina

(34).

Otros indicadores utilizados en el Laboratorio de Análisis Clínicos son:

- Niveles de hierro sérico, que puede reflejar el exceso de hierro.
- Porcentaje de saturación de transferrina, que presenta un amplio rango de variabilidad sobre todo en presencia de infecciones.
- Ferritina sérica, indicador habitual de Fe de depósitos; su aumento en procesos infecciosos o inflamatorios, hace cuestionable en ese período los valores elevados (36).
- Protoporfirina eritrocitaria (PE), aumenta cuando no hay suficiente Fe para completar la eritropoyesis, detectando deficiencias marginales de Fe (37).
- Receptor soluble de transferrina. Los valores elevados reflejan bajos depósitos de Fe ó incremento de la eritropoyesis, sin estar afectada por las infecciones o procesos inflamatorios, proponiéndolo como “estándar de oro” (38, 39, 40).
- Hefcidina, nuevo indicador promisorio, que por el momento se utiliza solamente con fines de investigación (41).

Los indicadores utilizados en el RNPT suelen ser el hematocrito y la Hb, tratando de reducir las extracciones de sangre y su volumen. Los valores promedio normales de hemoglobina (g/dL) durante los primeros 3 meses de vida según peso de nacimiento figuran en la tabla 2. Como puede observarse existe una disminución progresiva de los valores de Hb durante el primer mes de vida extrauterina que conduce a anemia por deficiencia de Fe. Los RNPT representan una población especial, ya que al nacer antes de tiempo les faltó la mayor acreción de hierro que se produce en el último trimestre.

Tabla 2
Valores normales de hemoglobina durante los primeros 3 meses de vida
Los valores entre paréntesis expresan el límite inferior normal (media-2DE)

	Edad postnatal					
	Nacimiento	24 horas	2 semanas	1 mes	2 meses	3 meses
Peso de nacimiento	hemoglobina (g/dl)					
< 1.000 g	16,5 (13,5)	19,3 (15,4)	16,0 (13,6)	10,0 (6,8)	8,0 (7,1)	8,9 (7,9)
1.001-1.500 g	16,5 (13,5)	18,8 (14,6)	16,3 (11,3)	10,9 (8,7)	8,8 (7,1)	9,8 (8,9)
1.501-2.000 g	16,5 (13,5)	19,4 (15,6)	14,8 (11,8)	11,5 (8,2)	9,4 (8,0)	10,2 (9,3)
> 2.000 g	16,5 (13,5)	19,3 (14,9)	16,6 (13,4)	13,9 (10,0)	11,2 (9,4)	11,5 (9,5)

BIODISPONIBILIDAD DEL HIERRO

La absorción del hierro tiene lugar en la porción superior del intestino delgado, donde existen receptores para el hierro hemínico y para el no hemínico. En el recién nacido existen receptores específicos para la lactoferrina de la leche materna, responsables de la elevada absorción que alcanza valores de 60 %. El hierro de la leche humana tiene

absorción muy alta, por estar unido con elevada afinidad a una proteína: la lactoferrina. La inmadurez del recién nacido la protege de la hidrólisis gástrica y permite que se transfiera a los receptores de la mucosa intestinal. En la leche de vaca la biodisponibilidad del hierro es muy inferior a la leche materna por la mayor concentración de calcio y caseína (42).

El hierro no hemínico debe 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 (algunos amino ácidos, hidratos de carbono, ácidos orgánicos, como málico, láctico y vitamina C, que es el potenciador más efectivo). Por otra parte, la absorción puede estar inhibida por la presencia de fosfatos, fitatos, polifenoles, fibra, ácidos grasos, algunas proteínas, etc. Existen además, diversas interacciones con otros minerales y con vitaminas (43, 44).

La absorción del hierro de suplementos en niños pretérmino oscila entre 25-40%, cifra mayor que en los niños nacidos a término. Sin embargo existen pocos estudios sobre la absorción de hierro en fortificadores multinutrientes administrados o no conjuntamente con leche humana.

La biodisponibilidad de un nutriente se define como la proporción del nutriente ingerido que puede ser absorbido y utilizado por el organismo para los fines que le son propios. En el caso de los nutrientes minerales, las dificultades metodológicas para su determinación son causa de que se considere la absorción intestinal como sinónimo de biodisponibilidad. La evaluación de la biodisponibilidad es especialmente importante en el caso de los alimentos fortificados y suplementos en los que se debe seleccionar, además de la fuente más adecuada del nutriente a utilizar, la formulación y los procesados que optimicen su biodisponibilidad potencial (45).

La fortificación debe asegurar que el nutriente agregado sea fisiológicamente disponible en el vehículo, estable en las condiciones adecuadas de almacenamiento y uso del producto fortificado, que no produzca desequilibrios de nutrientes esenciales y que exista una seguridad razonable de que no ocurra una ingesta excesiva a nivel de efectos adversos o toxicidad (46).

La biodisponibilidad del hierro de fortificación depende de la forma química, de la matriz del vehículo, de los procesos térmicos, fermentativos, etc. e inclusive de las condiciones de conservación y del almacenamiento del producto (45).

Los iones ferrosos permanecen solubles hasta un $\text{pH}=7$, mientras que los iones férricos forman, a $\text{pH}>3$, hidróxidos hidratados altamente insolubles o complejos con los otros componentes del producto, cuyas constantes de afinidad y solubilidad varían según su naturaleza química y el pH.

El ion férrico forma compuestos de mayor estabilidad/afinidad y menor solubilidad que el ion ferroso. Por dichos motivos las sales férricas son menos biodisponibles que las ferrosas y los compuestos más efectivos son aquellos que poseen una constante de estabilidad suficientemente elevada como para minimizar la interacción con posibles ligandos de la matriz del vehículo capaces de formar complejos insolubles.

El sulfato ferroso suele tomarse como referencia al determinar la absorción del hierro. Su absorción en solución acuosa y en individuos adultos deplecionados, medida isotópicamente, es de 40%. Sin embargo, cuando se la toma como referencia para comparar la absorción de otros compuestos se le asigna un valor máximo de 100.

Los diversos compuestos de hierro utilizados en la fortificación exhiben una dicotomía entre su valor biológico (absorción) y su reactividad que es muy particular: los de mayor valor biológico (mayor biodisponibilidad) poseen una mayor reactividad, es decir un mayor efecto prooxidante y, por ende, menor compatibilidad con el vehículo. A la inversa, los compuestos de menor biodisponibilidad poseen mayor compatibilidad desde el punto de vista de las características nutritivas del producto. Existen como excepciones complejos como el glicinato férrico y el EDTA férrico, que, por su

elevada constante de estabilidad se absorben sin disociar y presentan alta biodisponibilidad sin producir interacciones indeseables con la matriz en la que se incorporan. En la Tabla 3 se enumeran los compuestos de hierro comúnmente utilizados para la fortificación. Se puede observar que la absorción, estimada con ^{59}Fe en adultos, guarda una relación inversa con la reactividad frente a los componentes de la matriz alimentaria que pueden sufrir alteraciones por efecto de las reacciones de óxido reducción provocadas por el hierro.

TABLA 3
Valor biológico relativo y compatibilidad con el alimento de fuentes de Fe usadas en la fortificación

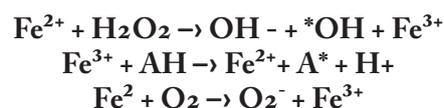
Compuestos listados en el Code of Federal Regulation	V.B.R.	Reactividad
Sulfato ferroso	100	
Citrato férrico amónico	107	
Fe-colina citrato	102	
Gluconato ferroso	97	
Fumarato ferroso	95	
Lactato ferroso	-	
Fe elemental (electrolítico)	38-76*	
	5-20**	
Fe elemental(reducido)	18-54*	
	5-20**	
Fe elemental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

*Valores determinados en ratas

**V.B. en humanos con método doble isotópico

EFFECTOS ADVERSOS DEL HIERRO

El hierro, por sus características electrónicas, puede presentarse como ferroso o férrico según su valencia ($\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$) lo cual le confiere la propiedad de ser un potente catalizador de ciertas reacciones que generan radicales libres por pérdida o ganancia de un electrón: el hierro interviene en reacciones redox que, en presencia de oxígeno molecular, inician la peroxidación en cadena por reacción de radicales libres sobre los dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares. Esto dejará una membrana disfuncional y una posible muerte celular.



Estas reacciones también pueden producirse en las formulaciones disminuyendo la vida útil de los productos y la biodisponibilidad de otros nutrientes. Por lo tanto, en dichas formulaciones el agregado de Fe debe ser cuidadosa-

mente analizado en cuanto a su interacción con los otros componentes.

La mayor estabilidad de los compuestos de ion férrico es el motivo por el cual el hierro en el organismo no se encuentra libre, sino unido a proteínas que lo vehiculizan (transferrina) o lo almacenan (ferritina y hemosiderina) para liberarlo cuando debe ser utilizado para sus funciones biológicas.

El hierro de la transferrina está como ion férrico, se une a receptores celulares específicos; para su internalización en la célula necesita reducirse a ferroso y reoxidarse nuevamente para su depósito como ferritina. En estas reacciones redox intervienen una ferroxidasa cobre-dependiente (ceruloplasmina), la Xantino-oxidasa (hierro y molibdeno dependiente) y la vitamina C; la vitamina A es necesaria para la movilización del hierro del hígado. Por consiguiente las deficiencias de proteínas, algunas vitaminas (A y C) y otros nutrientes minerales, fundamentalmente el cobre, pueden causar anemia ferropénica resistente a la administración de Fe.

Cuando existe sobrecarga de hierro, se excede la capacidad de saturación de la transferrina y el hierro libre promueve la formación de radicales libres aumentando el riesgo de retinopatía asociada a prematurez, y de radicales libres que pueden inducir peroxidación lipídica. Estas reacciones explican los efectos adversos de daño isquémico de miocardio, en animales de laboratorio (47).

En el humano se ha encontrado asociación con daño cardiovascular, de SNC, riñón, hígado, hemocromatosis, aumento de la incidencia de cáncer y posible cirrosis hepática. Los resultados obtenidos en un estudio epidemiológico llevado a cabo en Finlandia, entre 1984-1989, con hombres adultos que no presentaban síntomas de enfermedad coronaria, sugirieron que el exceso de hierro de depósito, estimado a través de la concentración elevada de Ferritina sérica, constituye un factor de riesgo de enfermedad coronaria (48-49).

La leche materna es un alimento complejo y el agregado de un fortificador debe tener en cuenta la interacción de todos sus componentes, con objeto de optimizar y asegurar los efectos fisiológicos en el organismo.

El agregado de hierro a la leche materna mediante un fortificador debe tener en cuenta estas interacciones y evitar efectos no deseados tanto en la estabilidad del producto como en los efectos adversos en el organismo (50).

Además, el exceso de hierro puede permitir un mayor crecimiento de los microorganismos y un proceso más virulento. A nivel intestinal puede unirse a la lactoferrina y disminuir la función protectora de esta proteína sobre los microorganismos patógenos. Ovali y col evidenciaron que el agregado de Fe a leche materna con fortificador reduce la capacidad antimicrobiana frente a la *E coli*, *S aureus* y *P aerogunisa*. Este efecto puede deberse a disminución del efecto de la lactoferrina presente naturalmente en la leche materna por su saturación con el hierro agregado (51, 53).

RECOMENDACIONES SOBRE INGESTA LÍPIDOS EN EL RNPT

Los lípidos presentes en la leche materna, representan una importante fuente de energía para el bebé. Aportan aproximadamente el 50% de las calorías totales. Además, son fuente de ácidos grasos esenciales y vehículo de las vitaminas liposolubles, cuya absorción favorecen.

La leche materna aporta entre el 50 y el 60 por ciento de la energía en forma de grasas, y durante la etapa del destete hay que tener cuidado para evitar que el consumo de grasas disminuya demasiado rápidamente, o por debajo de los niveles requeridos.

Los límites para las recomendaciones de ingesta de lípidos en el RNPT derivan de considerar la tolerancia gastro intestinal, la densidad energética y la osmolaridad. Suponiendo un depósito intrauterino de lípidos de 3 g/Kg/día, la absorción y la utilización ESPGHAN estimó la ingesta mínima de lípidos en 3.8 a 4.8 g/Kg/día, que equi-

vale a 4.4 g/100 Kcal/día. Aunque pueden existir niños que tengan necesidades mayores, parece razonable para los RNPT un rango de 4.8 a 6.6 g/Kg/día equivalentes a 4.4-6. g/100 Kcal lo cual representa entre 40 y 55% de la energía suministrada.

RECOMENDACIONES SOBRE INGESTA DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES:

Hay dos ácidos grasos que resultan indispensables para promover el crecimiento y buen funcionamiento del organismo animal, ya que deben ser ineludiblemente aportados por la dieta, por no ser sintetizados por el hombre. Esta incapacidad tiene que ver con los mecanismos de síntesis, elongación y desaturación de ácidos grasos. Esos ácidos grasos son: el ácido linoleico (de 18 carbonos, dos dobles ligaduras no conjugadas a partir del carbono 6 contando desde el grupo metilo: 18:2, ω 6) y el ácido linoléico (de 18 carbonos, tres dobles ligaduras a partir del carbono 3: 18:3, ω 3) (42).

El ácido linoleico (18:2, ω 6,) es el tercero en abundancia en la leche materna (13,6%). Los poliinsaturados de cadena larga (araquidónico y docosahexaenoico) no se encuentran en la leche de vaca, pero sí en la materna. Son beneficiosos en la etapa de crecimiento y maduración del sistema nervioso central del bebé (26, 27), en el desarrollo neurológico y predominan en cerebro y retina del neonato (54).

El ácido dodecosahexaenoico o DHA (22:6 ω 3), el más largo e insaturado de los AG con actividad esencial, está en un alto porcentaje en fosfolípidos de cerebro y retina. El DHA se acumula selectivamente en la retina y sustancia gris del sistema nervioso. Los fotorreceptores de los bastoncillos están inmersos en estructuras fosfolípicas muy ricas en DHA y con bajo contenido de colesterol, otorgándoles a esas membranas una fluidez inusual pero indispensable para su actividad fotoquímica. La depleción, reduce la función visual, genera alteraciones cognitivas y conductuales como también alteraciones del metabolismo de los neurotransmisores, disminución de la actividad de membrana proteica y receptores (55).

También se sabe que durante el período pre y posnatal hay una fuerte acumulación en cerebro de DHA que persiste hasta los 2 años, y que ese AG es tenazmente retenido en casos de deficiencia. Cuando hay deficiencia de DHA, el organismo tiende a reemplazar al DHA con otro AG altamente poliinsaturado de la serie ω 6, el ácido dodecosapentanoico (22:5 ω 6), lo que muestra en ensayos experimentales una disminución de la agudeza visual en monos y en algunos estudios en lactantes (56).

La esencialidad de los ácidos grasos también se relaciona con otra función específica, como precursores de prostanoides. Hay tres derivados de los ácidos grasos esenciales de 20 carbonos, dos de la familia ω 6: el dihomo-gamma-linolénico (20:3 ω 6) y el araquidónico (20:4 ω 6), y uno de la familia ω 3: el eicosapentaenoico o EPA (20:5 ω 3) que, en concentraciones extremadamente pequeñas, actúan modulando acciones fisiológicas en los tejidos. Esos ácidos grasos precursores de 20 carbonos se encuentran almacenados en los fosfolípidos de membrana celular, preferentemente en la posición sn 2 de la molécula. Cuando un tejido recibe un determinado estímulo, una fosfolipasa libera a un precursor de la membrana, que es convertido por la enzima cicloxigenasa o la lipoxigenasa, según sea el estímulo, en alguno de los siguientes productos finales: prostaglandina, prostaciclina, tromboxano o leucotrieno, que efectúan una acción fisiológica específica, que en cada caso suele variar en intensidad o puede ser opuesto, según sea el precursor del que derivan (57).

Dado que los ácidos grasos de ω -6 y de ω -3 compiten por las mismas enzimas pero presentan roles biológicos diferentes, el equilibrio entre ellos en la alimentación puede ser considerablemente importante y en el caso de los lactantes el agregado de EPA puede competir con la formación de araquidónico y ser motivo de retardo del crecimiento.

El consumo de las cantidades adecuadas de ácidos grasos esenciales es importante para un crecimiento y desa-

rollo normal. El ácido araquidónico y el ácido docosahexanoico (DHA) son particularmente importantes para el desarrollo del cerebro, y la leche materna constituye una buena fuente de estos ácidos grasos (58).

Las recomendaciones elaboradas por organismos oficiales de Estados Unidos y Canadá (59) coinciden en general con los criterios de los organismos internacionales, expresándolas como Ingestas Adecuadas (AI), para el total de AG ω -6 y ω -3, en g/día. Esas recomendaciones para los primeros 6 meses de vida, de niños nacidos a término son de: ácidos poliinsaturados ω 6: 4,4 g/día; ácidos poliinsaturados ω 3: 0,50 g/día. Esas cifras se basan en la composición de la leche materna y representan 8 y 1% de la energía ingerida, para el total de ω 6 y de ω 3, respectivamente.

En el caso de RNPT las recomendaciones de ESPGHAN indican cifras de ácido. linoleico: ácido araquidónico, para los ω 6 y de ácido. Linolénico y ácido docosa hexaenoico (DHA) para los ω 3. Dichas cifras figuran en la tabla 4 y pueden ser cubiertas por el aporte de leche materna.

Tabla 4
Recomendaciones de ESPGHAN para RNPT de los ácidos linoleico, araquidónico, linolénico y ácido docosa hexaenoico (DHA)

	mg/Kg/d	mg/100 Kcal	% de la energía ingerida
Ác. linoleico	385 - 1540	350 - 1400	3.2 – 12.6
Ác. linolénico	55	50	0.45
Ác araquidónico	18-42	16-39	
DHA	12-30	11-27	

Se deben cuidar las siguientes relaciones:

- Araquidónico/ docosa-hexa-enoico (DHA): 1.0-2.0: 1 (peso/peso), no excediendo del 30% del DHA
- Linoleico/ linolénico: 5-15:1

ALTERACIONES DE LOS LÍPIDOS ALIMENTICIOS

Los lípidos están expuestos a la acción de diferentes situaciones que pueden producir cambios químicos, y modificarse así las propiedades organolépticas del alimento. Generalmente van acompañados por cambios con deterioro en su valor nutritivo.

Cuanto más insaturados son los ácidos grasos tanto más inestables son desde el punto de vista químico, lo cual da lugar a reacciones de oxidación, polimerización, isomerización etc., que afectan no sólo las cualidades organolépticas sino también el valor nutricional del alimento. En estos casos los sustratos de oxidación son los ácidos grasos insaturados de los fosfolípidos de membrana.

En la estabilidad de las grasas alimenticias también influye la naturaleza del sistema, la presencia de prooxidantes o de antioxidantes y las condiciones de procesado o almacenamiento del producto.

En el proceso de oxidación de lípidos se forman radicales libres a partir de ácidos grasos no saturados o por descomposición de peróxidos. Los radicales libres reaccionan con el O₂, dando radicales peróxidos e hidroperóxidos muy inestables que generan nuevos radicales libres, contribuyendo así a mantener la reacción en cadena y propagar el proceso oxidativo. Los radicales libres inestables y muy reactivos provenientes en mayor medida de los peróxidos, se

asocian entre sí para dar origen a diversos compuestos no radicales estables. Entre estos compuestos se incluyen aldehídos y cetonas de bajo peso molecular, que son los responsables del sabor rancio.

La reacción se ve favorecida por las altas temperaturas, por la luz u otro tipo de radiaciones; por la presencia de metales como hierro, cobre, manganeso y de compuestos prooxidantes. Todos estos factores también aceleran la descomposición de hidroperóxidos. En cambio, los complejantes de metales (aminoácidos u otros compuestos fenólicos) y antioxidantes (vitamina E y otros) que están presentes en la matriz alimentaria o el agregado de aditivos con capacidad quelante, retardan o inhiben la iniciación del proceso oxidativo.

Más allá de los cambios organolépticos que origina el deterioro de grasas, las reacciones químicas que sufren los lípidos alimenticios provoca cambios nutricionales indeseables en los alimentos. Las reacciones de oxidación implican pérdida de ácidos grasos esenciales. Los radicales libres y peróxidos, muy reactivos, destruyen las vitaminas vehiculizadas en la grasa. La efectividad como antioxidante de la vitamina E, está obviamente acompañada con su destrucción. La vitamina A, D y los carotenos se destruyen por oxidación secundaria. Otros nutrientes sensibles a la oxidación, como vitaminas C, tiamina, ácido fólico y los aminoácidos azufrados, también sufren deterioros. Los grupos carbonilo generados en el proceso de degradación dan sustrato adecuado para la reacción de Maillard. En consecuencia, la oxidación de lípidos produce pérdidas de ácidos grasos esenciales, destrucción de vitaminas y disminución del valor biológico de la proteína.

CONCLUSIONES

El recién nacido prematuro presenta demandas especiales de energía y de todos los macro y micronutrientes. El Comité de ESPGHAN aconseja la utilización de la leche materna para los niños pretérmino como práctica estándar. Sin embargo, la leche materna no alcanza a cubrir las necesidades de la mayoría de los nutrientes, presentando una deficiencia marcada de proteínas, sodio, calcio, fósforo, hierro, zinc, manganeso y selenio, aportando entre 10 y 50% de las recomendaciones, por lo cual efectuó recomendaciones sobre el aporte mínimo y máximo de la mayoría de los nutrientes para un crecimiento deseable de los RNPT.

Los fortificadores de leche humana son un suplemento de multicomponentes, que mejoran a corto plazo el crecimiento en ganancia de peso, estatura y perímetro cefálico, e incrementan el contenido mineral y el balance nitrogenado sin observar efectos adversos a corto y largo plazo.

Los diferentes fortificadores comercializados en Argentina, agregados a la leche materna, modifican el aporte de los siguientes nutrientes:

- Mejoran el aporte proteico, aunque ninguno alcanza el límite inferior del rango aconsejado por **ESPGHAN 2010**.

- Mejoran, en cantidades variables, el aporte de vitaminas, alcanzando en general las recomendaciones de **ESPGHAN 2010**.

- Mejoran, en cantidades variables, el aporte de minerales. En el caso del sodio, solo uno alcanza el límite inferior del rango aconsejado por **ESPGHAN 2010**.

- En el caso del cobre, algunos superan el límite superior de las recomendaciones de **ESPGHAN 2010**, lo cual podría generar efectos adversos debido a la inmadurez del prematuro.

- Existen fortificadores que no contienen agregado de hierro ni de lípidos, debido a que existen discrepancias en cuanto a su agregado a los complementos de leche materna.

- La leche materna tiene muy bajo contenido de Fe, pero pese a su elevada biodisponibilidad no cubre las necesidades del nacido pretérmino. Por ello es necesario recurrir a fortificadores o a uso de suplementos orales que permiten dosificar la cantidad a administrar y evitar los efectos adversos del exceso.

- En la práctica el pediatra puede enfrentarse con la disyuntiva de elegir entre fórmulas comerciales que contienen o no dichos nutrientes, para lo cual deberá considerar las características clínicas del RNPT.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Allen LH. (1994). Recent developments in maternal nutrition and their implications for practitioners. *Am J Clin Nutr* 59 (2 S): 437 S.
- 2) Martin CR, Brown YF, Ehrenkranz RA, O'Shea TM, Allred EN, et al. (2009). Extremely Low Gestational Age Newborns Study Investigators. Nutritional practices and growth velocity in the first month of life in extremely premature infants. *Pediatrics* 124(2): 649-57.
- 3) Klein CJ. (2002). Nutrient requirements for preterm infant formulas. *J Nutr* 132: 1395S-577S.
- 4) Tsang RC, Uauy R, Koletzko B, Zlotkin SH, eds. (2005) *Nutrition of the Preterm Infant: Scientific Basis and Practical Guidelines*. 2nd ed. Cincinnati, OH: Digital Educational Publishing Inc: 29.
- 5) Neu J, Hauser N, Douglas-Escobar M. (2007). Postnatal nutrition and adult health programming. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 12:78-86.
- 6) Rigo J, Senterre J. (2006). Nutritional needs of premature infants: current issues. *Journal of Pediatrics*. 149(5): s80-s88.
- 7) Casey P. (2008). Growth of low birth weight preterm children. *Semin Perinatol* 32: 20-7.
- 8) Koletzko B., et al. (2005). 1. Guidelines on Paediatric Parenteral Nutrition of the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) and the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), Supported by the European Society of Paediatric Research (ESPR). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 41: S1-87.
- 9) Adamkin DH. (2004). Feeding in preterm infant. In: *Perinatal Nutrition Optimizing Infant Health and Developmental*. J Bathis, Ed. New York: Marcel Dekker 165-90.
- 10) De Curtis M, Rigo J. (2004). Extrauterine growth retardation in very-low-birth weight infants. *Acta Paediatr* 93 (12):1563-8.
- 11) Coverston CR, Schwartz R. (2005). Extrauterine growth restriction: a continuing problem in the NICU. *Am J Matern Child Nurs* 30(2):101-6.
- 12) Embleton NE, Pang N, Cooke Rj. (2001) Postnatal malnutrition and growth retardation: an inevitable consequence of current recommendation in preterm infants?. *Pediatrics* 107: 270-3.
- 13) Nutrition and feeding of preterm infants. Committee on Nutrition of the Preterm Infant, European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Acta Paediatr Scand Suppl*, 1987. 336: 1-14.
- 14) Henderson G, Anthony MY and Mc Guire W. (2008). The Cochrane collaboration. Leche de formula vs leche materna para la alimentación de neonatos prematuros o de bajo peso al nacer. *La Biblioteca Cochrane Plus*, número 2.
- 15) Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, et al. (2010). Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*; 50: 85-91.
- 16) Schanler R, Shulman RJ and Chantal Lau. (1999). Feeding Strategies for Premature Infants: Beneficial Outcome of Feeding Fortified Human Milk Versus Preterm Formula *Pediatrics*. 103:1150-7
- 17) Ziegler EE, Thureen PJ, Carlson SJ. (2002). Aggressive nutrition of the very low birth weight infant. *Clin Perinatol* 29:225-44
- 18) Kuscel CA, Harding JE. 2005. Multicomponent fortified human milk for promotion growth in preterm infants. *Cochrane review*. The Cochrane Library.
- 19) De Curtis M, Candusso M, Pieltain C, Rigo J. (1999) Effect of fortification on the osmolality of human milk. *Arch Dis Child Fetal neonatol* Ed. 81:F141-3.
- 20) Mc Clure R J, Newell SJ. (1996). Effect of fortifying milk on gastric emptying. *Archives of Diseases in Childhood*; 74: F60- 62.
- 21) Brumberg HI, Kowalski I, et al. (2010). Randomized trial of enteral protein and energy supplementation in infants less than or equal 1250 g at birth. *Journal of Perinatology* 30: 517-21.
- 22) Dallman PR. (1990). Iron. In: *Present Knowledge in Nutrition*, 6a ed., 241-50. Brown M.L. Ed. Nutrition Foundation, Washington, D.C.

- 23) Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Requirements of Vitamin A, Iron, Folate and Vitamin B 12. (1988) FAO Food and Nutrition Series, n 23. Roma.
- 24) Recommended Dietary Allowances 10 th ed. Food and Nutrition Board. (1989) National Research Council. National Academy Press, Washington DC.
- 25) Iron Fortification of Infant Formulas. (1999). American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Pediatrics 104. 119-23.
- 26) Dallman PR. (1987). Iron deficiency and the immune response. Am J Clin Nutr 46: 329-34.
- 27) Pollet SA, Harpin ML. (1982) Fatty acid and lipid composition of the brain of a myelin deficient mutant, the quaking mouse. In: Iron Deficiency: Brain, Biochemistry and behaviour. Pollitt E, Leibel RL: Raven Press, NY Elsevier Biomedical Press, 287-336.
- 28) Sociedad Argentina de Pediatría. (2009) Subcomisiones, Comités y Grupos de Trabajo. Anemia ferropénica. Guía de diagnóstico y tratamiento. Comité Nacional de Hematología. Comité Nacional de Hematología. Arch Argent Pediatr; 107:353-61
- 29) Hall RT, et al. (1993). Feeding iron-fortified premature formula during initial hospitalization to infants less than 1800 grams birth weight. Pediatrics. 92: 409-14.
- 30) Friel, J.K., et al., (2001). A randomized trial of two levels of iron supplementation and developmental outcome in low birth weight infants. J Pediatr 139: 254-60.
- 31) Franz AR, Mihatsch WA, Sander S, Kron M, Pohlandt F. (2000). Prospective randomized trial of early versus late enteral iron supplementation in infants with a birth weight of less than 1301 grams. Pediatrics; 106: 700-6.
- 32) Sánchez Ruiz-Cabello FJ. (2011) Prevención primaria y cribado de ferropenia en lactantes. En Recomendaciones PrevInfad / PAPPS [en línea]. Actualizado junio de. [consultado 10-04-2012]. Disponible en <http://www.aepap.org/previnfad/ferropenia.htm>
- 33) Iron fortification of infant formulas. (1999). American Academy of Pediatrics. Committee of Nutrition. Pediatrics 104: 119-23.
- 34) Refsum SB and Schreiner BB. (1984). Regulation of Iron balance by absorption and excretion: a Critical Review and a new hypothesis. Scand J Gastro 19: 867.
- 35) 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..
- 36) Gibson RS. (1990). Assessment of Iron Status. En: Principles of Nutritional Assessment. New York – Oxford. Oxford University Press.
- 37) Piomelli S, Brickman A and Carlos E. (1976). Rapid diagnosis of iron deficiency by measurement of Free Erythrocyte Protoporphyrins and Hemoglobin: the FEEP/Hb ratio. Pediatrics, 57, 136-41.
- 38) Huebers HA, and Finch CA (1987) The Physiology of Transferrin and Transferrin Receptor. Physiological Reviews 67 (2): 520-582.
- 39) Skikne BS, Flowers CH, and Cook JD (1990) Serum transferrin receptor: A quantitative measure of tissue iron deficiency. Blood 75 (9): 1870-1876.
- 40) Cook JD, Skikne BS, and Baynes RD (1993) Serum Transferrin Receptor. Ann. Rev. Med. 44: 63-74.
- 41) Collins JF, Wessling-Resnick M and Knutson MD. (2008). Hcpidin Regulation of Iron Transport J. Nutr. 138: 2284-8.
- 42) Ronayne de Ferrer P. (1993) Leche humana: I. Composición nutricional (actualización). Arch Arg Pediatr 91: 158-64.
- 43) Wapnir RA. (1990). Nutritional factors, proteins and the absorption of Iron and Cobalt. Chap. 6, en: Protein Nutrition and Mineral Absorption. CRC Press, Boca Raton, Florida (USA).
- 44) Langini S, Carbone N, Galdi M, Barrio Rendo ME, Portela ML and Valencia ME. (1988). Ferric Glycinate Iron availability in infant formulas determined by extrinsic radioisotopic labelling. Nutrient Availability: Chemical and Biological Aspects, p. 167-170.- D.A.T. Southgate, Johnson and Fenwick ed. , Norwick (UK).
- 45) Hallberg L and Hulthén L. (2000). Prediction of dietary iron absorption: an algorithm for calculating absorp

ption and bioavailability of dietary iron *Am J Clin Nutr*; 71:1147-60.

- 46) Banner W and Tong TG. (1986). Iron poisoning. *Pediatr Clin North. Am* 33: 393-409.
- 47) Bacon BR, Tavill AS, Brittenham GM, Park CH and Recknagel RO. 1983. Hepatic lipid peroxidation in vivo in rats with chronic iron overload, *J Clin Invest* 71, 429-39.
- 48) Salonen JT and AL, al, (1992) .High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in Eastern finnish men. *Circulation* 86: 803
- 49) Yukata Kohgo, Katsuya Ikuta, Takaaki Ohtake, Yoshihiro Torimoto and Junji Kato. (2008). Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol.* 88: 7-15.
- 50) Moore A and Worwood M. (1989). Iron and the sudden death syndrome. *Brit Med J* 298: 1248.
- 51) Ovali F, Ciftci IH, Cetinkaya Z and Bukulmez A. (2006). Effects of a Human Milk- Fortifier on the Antimicrobial properties of Human Milk. *J Perinatology* 26: 761-3.
- 52) Braekke K, Bechensteen AG, Halvorsen BL, Blomhoff R, Haaland K, Staff AC. (2007) Oxidative stress markers and antioxidant status after oral iron supplementation to very low birth weight infants. *J Pediatr*; 151: 23-8.
- 53) Gary M. Chan, Martin L. Lee, and David J.(2007). Effects of a Human Milk-Derived Human Milk Fortifier on the Antibacterial Actions of Human Milk. *Rechtman. Breastfeeding Medicine.* 2(4): 205-8.
- 54) Uauy R and Hoffman D R (2000). Essential fat requirements of preterm infants. *Am J Clin Nutr*;71(suppl):245S-50S.
- 55) Gibson RA, Neumann MA, Makrides M. *Eur J Clin Nutr.* (1997). Effect of increasing breast milk docosahexaenoic acid on plasma and erythrocyte phospholipid fatty acids and neural indices of exclusively breast fed infants.51(9):578-84
- 56) Koletzko B, Thie I and Abiodun PO. (1992). The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. *J Pediatr* 120: S62-70.
- 57) Durán A S and Masson S L. (2010). Aporte de ácidos grasos trans, ácido linoleico conjugado y ácido docosahexaenoico, en la grasa de leche materna de nodrizas chilenas. *Rev Chil Nutr* 37: 8-17.
- 58) Panel on Macronutrients, Panel on the Definition of Fiber, Subcommittee on Upper Reference Levels of Nutrients, Subcommittee on Interpretation and Uses of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. (2002) Institute of Medicine of the National Academies. "Dietary Reference Intakes, Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids". The National Academies Press. Washington, DC.
- 59) Corrales R; Bravo M; Puratic O y Dupre MA. (1981) Anemia Hemolítica por carencia de vitamina "E" en recién nacido de bajo peso de nacimiento: I. Influencia de la alimentación: LM y NAN. *Rev Chil Pediatr.* 52: 139-43.
- 60) Varela Moreiras G, Cuadrado Vives C, Fraga Bermúdez JM, Martín Esteban M, Román Riechmann E. (2005). Alimentos especiales para prematuros. Opinión del Comité Científico de la AESA, en relación con los requerimientos nutricionales y energéticos de los alimentos especiales para prematuros (nacidos pre-término o de bajo peso al nacer). Núm. Referencia 2005-009.

AGRADECIMIENTOS

A Nutricia-Bagó por haber posibilitado la realización de las reuniones de discusión y elaboración de esta revisión.

CONFLICTO DE INTERESES

Las reuniones para la discusión y elaboración de esta revisión, así como la búsqueda bibliográfica fueron financiadas por Nutricia Bagó. El manuscrito fue escrito con la colaboración de los autores, sin que Nutricia Bagó tuviera control editorial alguno con respecto al resultado final. Ninguno de los autores mantiene relación comercial con esta empresa.

Anexo

Aporte de nutrientes por 100 Kcal de cada una de las preparaciones de 50 mL de leche materna con el agregado de fortificadores del mercado argentino

Nutrientes	ESPGHAN 2010 cant/kg/d	ESPGHAN 2010 cant/kcal/d	Leche materna PT (ref 16)	Leche PT 50 mL	Leche PT 50 mL	Leche PT 50 mL
	MBP	MBP		Nutriprem 1 sobre	Enfamil 2 sobres	Similac 2 sobres
Líquido mL	135-200	-	149			
Energía (kcal)	110-135	100	100	100 Kcal	100 Kcal	100 Kcal
Carbohidratos (g)	11.6-13.2	10.5-12	9,9	11,4	9,2	10,2
Proteínas (g) (< 1kg peso)	4.0-4.5	3.6-4.1	2,1	3,1	3,4	2,9
Proteínas (g) (1-1,8kg peso)	3.5-4.0	3.2-3.6				
Lípidos (g) (< 40% TCM)	4.8-6.6	4.4-6	5,8		6,6	
Ác. Linoleico (mg)*	385-1540	350-1400	550		685	
Ac. α-linolénico (mg)	> 55 (0,9% de AG)	> 50 (0,9% de AG)				
DHA (mg)	12-30	11-27				
AA (mg) **	18-42	16-39				
Fibra						
MINERALES						
Sodio (mg)	69-115	63-105	37	73,4	55,0	49,2
Potasio (mg)	66-132	60-120	85	97,7	115,8	148,5
Cloro (mg)	105-177	95-161	82	97,7	91,4	115,0
Calcio (mg)	120-140	110-130	37	109,8	155,0	179,5
Fósforo (mg)	60-90	55-80	19	61,3	84,7	97,6
Magnesio (mg)	8-15	7.5-13.6	4,6	9,8	5,5	12,5
Hierro (mg)	2-3	1.8-2.7	0,18	0,1	2,1	0,5
Zinc (mg) ***	1.1-2.0	1.0-1.8	0,51	1,2	1,4	1,7
Cobre (mcg)	100-132	90-120	96	121,1	145,9	290,3
Manganeso (mcg)	≤ 27.5	6.3-25	1	10,5	14,4	9,8
Selenio (mcg)	5-10	4.5-90	2,2	4,0	2,0	1,8
Iodo (mcg)	11-55	10-50	16	26,2	29,3	12,9
Fluor (mcg)	1.5-60	1.4-55				
Cromo (ng)	30-1230	27-1120				
Molibdeno (mcg)	0.3-5	0.27-4.5				

Anexo (continuación)

Nutrientes	ESPGHAN 2010 cant/kg/d	ESPGHAN 2010 cant/kcal/d	Leche materna PT	Leche PT 50 mL	Leche PT 50 mL	Leche PT 50 mL
	MBP	MBP		Nutriprem 1 sobre	Enfamil 2 sobres	Similac 2 sobres
VITAMINAS						
Vitamina A , mcg RE (1mcg≈3,33 UI)	400-1000	360-740	174,3	225,4	543,5	365,9
Vitamina D (mcg)	20-25 /d	2.5-8.75	0,075	6,1	3,9	3,7
Vitamina E mg α-TE	2.2-11	2-10	1,6	4,4	8,5	5,2
Vitamina K₁ (mcg)	4.4-28	4-25	0,3	8,0	6,2	10,4
Vit B₁ (Tiamina), mcg	140-300	125-275	31	194,5	230,6	305,9
Vit B₂ (Riboflavina) (mcg)	200-400	180-365	72	276,0	362,2	561,7
Vit B₃ (Niacina) (mcg)	380-5500	345-5000	224	3328	4256	4505
Vit B₅ Ác. Pantoténico (mg)	0.33-2.1	0.3-1.9	0,269	1,1	1,2	1,8
Vit B₆ - Piridoxina (mcg) (ver unidades)	45-300	41-273	22	163,0	176,6	274,4
Vit B₁₀ Ác. Fólico (mcg)	35-100	32-90	5	40,4	38,3	31,9
Vit B₁₂ - Cobalamina (mcg)	0.1-0.77	0.08-0.7	0,07	0,3	0,3	0,8
Biotina (mcg)	1.7-16.5	1.5-15	0,6	3,6	4,3	32,0
Vitamina C (mg)	11-46	10-42	16	27,4	30,6	43,4
Nucleótidos (mg)		≤ 5				
Carnitina (mg)						
Colina (mg)	8-55	7-50				
Inositol (mg)	4.4-53	4-48				
Taurina (mg)						
Osmolaridad CRPS (mOsm/l)						

NECESIDADES DE ZINC Y COBRE EN LAS FÓRMULAS DE NUTRICIÓN PARENTERAL PARA ADULTOS

Ana María Menéndez ^{1,2} y María Luz Pita Martín de Portela ^{2,3*}

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

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

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

* Dirigir la correspondencia a: Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Junín 956 2p (1113) CA Buenos Aires. mportela@ffyb.uba.ar y a aname09@gmail.com

INDICE

Resumen	39
Summary	40
Introducción	40
Zinc: funciones, deficiencia, indicadores de estado nutricional	41
Metabolismo y necesidades del Zn en el paciente crítico que reciben NPT.	44
Cobre: funciones, deficiencia, indicadores de estado nutricional.	46
Requerimientos de Cu en pacientes con NPT	48
Efectos adversos del zinc y del cobre.	50
Productos comerciales de zinc y cobre para NPT	51
Conclusiones	52
Referencias bibliográficas	52

RESUMEN

El zinc y el cobre son micronutrientes minerales esenciales que regulan numerosos procesos metabólicos esenciales y son componentes de metaloenzimas. Su deficiencia produce anormalidades fisiológicas y estructurales, habiéndose descrito alteraciones clínicas de deficiencia aguda en algunos pacientes alimentados con Nutrición Parenteral Total, debido a la incertidumbre de las dosis a administrar. Por otra parte, el exceso de zinc y de cobre puede producir efectos adversos asociados con el deterioro del estado nutricional con respecto a otros minerales y alteraciones en la respuesta inmune. Además, en el caso de pacientes con nutrición parenteral que presenten colestasis o compromiso hepático se deben cuidar particularmente los excesos de Cu. Por lo tanto se sugiere precaución en la administración de Cu en las fórmulas de nutrición parenteral para no administrar cantidades insuficientes que impidan la recuperación o, en otras situaciones, dosis que podrían producir manifestaciones de toxicidad. En consecuencia, en los pacientes críticos alimentados con nutrición parenteral total sería deseable efectuar el seguimiento del estado nutricional con respecto a estos micronutrientes minerales y modificar los aportes en función de las necesidades, para alcanzar resultados terapéuticos favorables y no producir efectos adversos. Además, las soluciones componentes que se utilizan para preparar las

mezclas de nutrición parenteral están contaminadas con microminerales, incluyendo zinc y cobre. Esto puede resultar en una mayor o menor dosificación de estos microminerales, comparado con la prescripción médica. Por lo tanto cuando la NPT es la única fuente de nutrición, para evitar la deficiencia o el exceso, es imperativo suplementar con las cantidades necesarias de cobre y zinc para cubrir los requerimientos del paciente crítico.

Palabras clave: nutrición parenteral, microminerales esenciales, zinc, cobre.

ABSTRACT

Zinc and copper are involved in a wide range of essential metabolic processes and they are components of metalloenzymes. Zinc deficient states have been reported in severely traumatized individuals which received total parenteral nutrition. Copper is closely linked to iron utilization through its effect on Caeruloplasmin and also it is a component of many metalloenzymes. However, there are evidences regarding the harmful effects of nutritionally excessive zinc and copper administration. Therefore, it is important in critically-ill patients receiving total parenteral nutrition to evaluate the most adequate copper and zinc doses required in order to maintain an adequate nutritional status. Copper is largely excreted in the bile and patients with cholestasis receiving total parenteral nutrition should receive lower copper amount to avoid its toxicity. However, it is difficult to establish zinc and copper requirements in humans and, although a great deal of zinc and copper functions are known, there is no ideal marker for assessing an adequate nutritional status. Therefore, there is no agreement in the recommended amounts of zinc and copper to be administered to critical patients. Furthermore, solutions used to prepare total parenteral nutrition are often contaminated with several trace elements, including zinc and copper. These may result in an under or over estimation of the actual amount administered to patients, as compared to that prescribed. Therefore, when total parenteral nutrition is the only source of nutrition, in order to avoid any deficiency or excess, it is imperative to supply the required copper and zinc amount to cover the critical patient's requirements.

Key words: parenteral nutrition, essential micro minerals, zinc, copper

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los pacientes graves, cuando comienzan a recibir nutrición parenteral total (NPT), presentan una deficiencia de microminerales esenciales y muchos tendrán aumentados sus requerimientos, debido a la existencia previa de una inadecuada absorción gastrointestinal, excesivas pérdidas, anormalidades en el metabolismo y al proceso inflamatorio asociado a su patología. Por dicho motivo, los estudios realizados en pacientes que reciben NPT han permitido ampliar los conocimientos acerca de las necesidades de microminerales esenciales tanto en condiciones normales como patológicas (1).

Las necesidades de cada micromineral esencial aún no se conocen en pacientes críticos con determinados estados patológicos (2). Por consiguiente, si bien es deseable que su administración sea personalizada, basándose en la evaluación clínica y bioquímica, es posible sugerir, para cada micronutriente mineral, una cantidad que probablemente cubra las necesidades de la mayoría de los individuos (3).

La deficiencia de los micronutrientes minerales puede ser la causa principal del compromiso clínico del paciente, motivo por el cual el Equipo de Terapia Nutricional necesita valorar su importancia y asegurar su administración en todos los pacientes que reciben nutrición parenteral (4).

Los microminerales considerados esenciales en el humano son: hierro, zinc, cobre, selenio, yodo, cromo, manganeso, molibdeno y fluoruro (5). El criterio de esencialidad de estos elementos fue 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). Cada elemento tiene por lo menos un rol importante que cumplir dentro del organismo, y para cada uno hay un rango de consumo dentro del cual se mantiene la homeostasis (6).

La evaluación del estado nutricional con respecto a estos micronutrientes minerales no es fácil y constituye un campo de la Nutrición en pleno desarrollo, ligado al avance en el conocimiento de sus funciones bioquímicas y a las posibilidades de realizar ciertas determinaciones en los Laboratorios de los Centros Hospitalarios (7, 8).

Existen ingestas recomendadas de nutrientes que se refieren a las cantidades requeridas por vía oral para la prevención de los estados de deficiencia y disminución del riesgo de varias enfermedades crónicas (9, 10, 11, 5). Sin embargo, se debe tener en cuenta que las cantidades de micro minerales que deben ser aportadas en la NPT presentan diferencias sustanciales con las de la alimentación oral ya que los nutrientes por vía parenteral llegan directamente al torrente sanguíneo. Por ello, gran parte del avance en el conocimiento de las necesidades de micronutrientes minerales se ha debido a la administración de fórmulas para NPT que no los tenían incorporados o los tenían en cantidad insuficiente. En algunos de esos pacientes alimentados con NPT se han descrito alteraciones en los niveles plasmáticos de micronutrientes minerales, indicativos de deficiencia aguda, así como sintomatología clínica que, en algunos casos ha llevado a trastornos irreversibles y a la muerte (12) (13).

ZINC

Funciones, deficiencia, indicadores de estado nutricional

El hombre adulto contiene entre 2 y 3 g de zinc (Zn), distribuido, fundamentalmente, en hueso, tejido muscular y eritrocitos, siendo esencial para la actividad de una gran cantidad de enzimas, de las cuales las más conocidas se relacionan con la utilización de la energía, la síntesis de proteínas y la protección oxidativa (14). Además, tiene un papel fundamental en la estabilización de macromoléculas de las membranas celulares, de ciertos receptores nucleares (de hormonas esteroides, tiroideas y retinoides) y en la regulación de la transcripción, uniéndose a proteínas nucleares (tabla 1). En general, todas esas funciones están relacionadas con la capacidad del Zn de estabilizar los sitios activos, uniéndose a la histidina y cisteína, formando complejos llamados "Zinc fingers" (15) (16) (17). La protección antioxidante, mediante la inactivación de radicales libres se realiza mediante una enzima dependiente de Zn (la SOD citosólica) y una proteína unida al Zn (metalotioneína) (18). Como consecuencia de sus funciones bioquímicas, el Zn en los seres humanos interviene en: la proliferación y el crecimiento celular; la reproducción y la maduración sexual; la adaptación a la oscuridad y la visión nocturna; la agudeza gustativa; la cicatrización de las heridas y la defensa inmune del huésped (19).

La deficiencia de Zn, en el hombre, ha sido la causa de un síndrome, común en Irán y Egipto, caracterizado por enanismo e hipogonadismo, estudiado por Prasad y Halsted, desde 1958 (20) (21). En el caso de las deficiencias crónicas se observan como síntomas clínicos y patológicos: disminución de la cicatrización de las heridas, retardo del crecimiento, depresión mental/apatía, alergia cutánea/lesiones en la piel, hipospermia e hipogonadismo, intolerancia a la glucosa y alteraciones inespecíficas de la función inmunitaria (17) (19) (22). La deficiencia severa de Zn presenta, como síntomas característicos, hiperqueratosis y paraqueratosis de la piel, esófago y estómago, dermatosis, alopecia, lesiones oculares, atrofia testicular, anorexia, diarrea, y ceguera nocturna.

El Zn tiene un rol fundamental en el crecimiento y desarrollo infantil, siendo necesario un depósito importante durante el desarrollo fetal. Por ello, los niños prematuros, que no han completado la maduración intrauterina cuando reciben NPT con cantidades insuficientes de Zn pueden presentar manifestaciones de deficiencia y detención del crecimiento (22).

Cuadro 1: Algunas enzimas que requieren Zn (ref 5)

Alcohol deshidrogenasa	Anhidrasa carbónica
Lactato deshidrogenasa	Fosfatasa alcalina
Piruvato deshidrogenasa	Fructosa-1-6-bis fosfatasa
α-aminolevulínica deshidrasa	Fosfodiesterasa
Elastasa	Transcarboxilasas, Glyoxilasa
Carboxipeptidasa A, B	Thimidin-kinasa
Proteasas, Peptidasas	Superóxido-dismutasa citoplasmática
Adenosin deaminasa	DNA y RNA polimerasas
Aspartato transcarbamilasa	5'-nucleotidasa

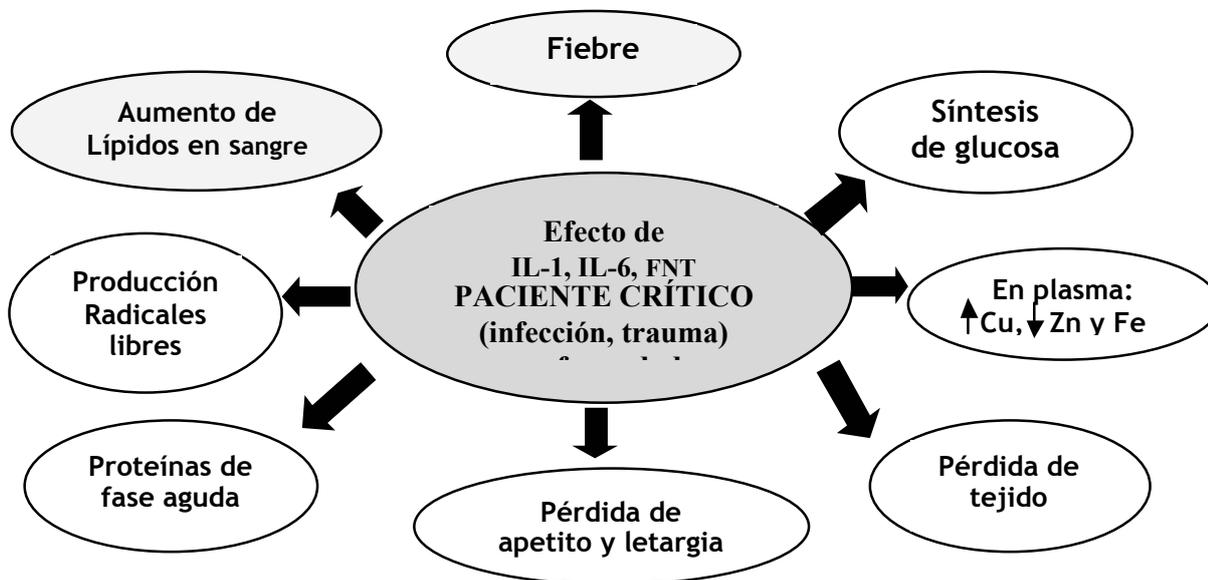
Gran parte del avance en el conocimiento de las necesidades de Zn se ha debido a la administración de fórmulas para NPT que no tenían incorporados micronutrientes minerales o los tenían en cantidad insuficiente. El primer caso publicado sobre deficiencia de Zn en pacientes con Nutrición Parenteral fue en el año 1975, describiéndose además de los síntomas del hipogonadismo, lesiones papulares, pustulares, eczematoideas, acneiformes y seborreicas, alteración la quimiotaxis de los leucocitos y de la función de los linfocitos T (23).

Posteriormente, diversos trabajos de investigación han demostrado que los pacientes que reciben NPT sin la suplementación de Zn presentan un balance negativo de este mineral (13), signos clínicos de deficiencia y alteraciones en los niveles plasmáticos, indicativos de deficiencia aguda de Zn (12) (13). Algunos de esos síntomas de deficiencia en pacientes con NPT revierten en 2 a 7 días con el tratamiento con dosis terapéuticas de Zn (22).

Los pacientes con desnutrición calórica-proteica requieren la administración Zn endovenoso para lograr la respuesta anabólica, la recuperación del peso corporal y balance positivo de Zn. Los pacientes desnutridos con NPT deben recibir un mayor aporte de Zn que los pacientes bien nutridos, para aumentar la retención de nitrógeno, la secreción de insulina y un balance de Zinc positivo (19).

Cuando el paciente está en el primer estadio de su enfermedad crítica (infección severa, lesión grave, enfermedad inflamatoria, etc.) se producen alteraciones metabólicas predecibles, que se engloban bajo el nombre de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). La SIRS induce leucocitosis, fiebre, incremento de la síntesis de proteínas de fase aguda e incremento del gasto energético, alteraciones que son beneficiosas para el individuo. Durante esta etapa se producen alteraciones en el metabolismo, transporte y excreción del Zn y del resto de oligoelementos (24)(25)

Figura 1
Metabolismo del Zn en el paciente crítico:
Efecto de las citocinas proinflamatorias



Ref. (25)

Por otra parte, hay una serie de enfermedades como la enfermedad de Crohn y el Síndrome de intestino corto, que cursan o pueden predisponer al paciente a una deficiencia de Zn durante el tiempo que reciben NPT (19). Existen diversas condiciones que predisponen la depleción del Zinc, tales como: fibrosis quística, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome nefrótico, insuficiencia pancreática, embarazo, prematurez, síndrome de intestino corto, talasemia, uremia o debido al uso de algunos medicamentos como D-penicilamina (23). Por lo tanto, los pacientes que reciben NPT pueden tener aumentadas sus necesidades por el tipo de enfermedad.

El Zn es transportado en la sangre unido a la albúmina, a la alfa-2-macroglobulina y a los aminoácidos histidina y cistina (alrededor de 66%, 32% y 1%, respectivamente). Sin embargo, no existe un indicador bioquímico único para establecer el estado nutricional con respecto al Zn. Los métodos que se han propuesto luego de las evidencias de deficiencias en humanos son

- determinación de Zn en: plasma, suero, leucocitos, neutrófilos glóbulos rojos, pelo (26) (8) (28) (29) (7) (19) (30).
- excreción urinaria de Zn en 24 hs.
- relación Zn/creatinina en orina basal (31).
- estudios metabólicos (20) (21).
- determinación de metalotioneína plasmática (MT) (32) (33).
- captación de ^{65}Zn por los eritrocitos "in vitro"
- actividad de metaloenzimas Zn-dependientes (7).

Las determinaciones en muestras biológicas tradicionales como suero, plasma y glóbulos rojos, son propuestas como los indicadores más comunes para identificar la deficiencia y realizar el seguimiento de los pacientes. Se debe tener en cuenta que en el caso de pacientes graves, la presencia de infección, inflamación y daño tisular produce captación de Zn por el hígado, médula ósea y timo, disminuyendo el Zn en plasma por influencia del aumento de la Interleuquina-1 (IL-1) e Interleuquina-6 (IL-6) (34) (35). Por ello, los valores bajos pueden deberse a dichas alteraciones metabólicas y no a riesgo de deficiencia clínica.

Metabolismo y necesidades de Zn en el paciente crítico que recibe NPT

El Zn unido a la albúmina provee el mayor pool de Zn intercambiable en el plasma. Durante la Fase de Respuesta Inflamatoria Aguda la síntesis de albúmina disminuye mientras que aumenta la síntesis de MT y de alfa-2-macroglobulina, pero las uniones del Zn a la alfa-2-macroglobulina son muy fuertes por lo que dificultan el intercambio. Estos cambios en la síntesis de las proteínas plasmáticas son mediados por el factor de necrosis tumoral, IL-1 y la IL-6 (25) (36).

Los niveles de Zn en plasma disminuyen de 10 a 69% en las primeras horas posteriores al trauma, cirugía o lesión (36). La extensión y tipo de trauma determinan la duración y magnitud de la disminución del Zn plasmático. El Zn es redistribuido desde el plasma al hígado, médula ósea y timo, secundario a la inducción de la síntesis de metalotio-neína (MT) (18). En 1990 Schroeder et al propusieron que la IL-1 es la responsable de la regulación de la metalotio-neína y la acumulación de Zn en el hígado durante la fase de respuesta inflamatoria sistémica, por los siguientes mecanismos: los macrófagos liberan IL-1 en respuesta al trauma, estrés o infección. La IL-1 estimula la liberación de ACTH causando la liberación y síntesis de corticoides. Los corticoides actúan sobre los hepatocitos para regular el aumento de la producción de MT y para inhibir luego la liberación de IL-1 desde los macrófagos. La IL-1 también estimula la liberación de IL-6 por los fibroblastos, incrementando la producción de MT y captación de Zn por los hepatocitos (35).

La excreción del ⁶⁵Zn ocurre en el tracto gastrointestinal, alrededor del 90% a través de la materia fecal y el resto en la orina. La excreción del ⁶⁵Zn a través de la orina aumenta en la fase de respuesta inflamatoria sistémica posterior a un trauma, y se postula que puede deberse al aumento del catabolismo muscular (25).

No hay acuerdo unánime en las distintas Sociedades Científicas, en relación a la prescripción de Zn en pacientes graves que reciben NPT. Las estimaciones de las necesidades de Zn, aplicando el método factorial, proporcionaron información para comenzar a administrar los micronutrientes minerales en las NPT (5). Con esta base la American Medical Association (AMA) estableció, empíricamente, para los pacientes adultos alimentados por vía parenteral un requerimiento de Zn de 2 a 4 mg de Zn/día (39) (tabla 1). Sin embargo, el estrés metabólico puede aumentar el requerimiento basal en 2 mg/d, con pérdidas de Zn muy elevadas en los 20 días posteriores a un trauma, y la pérdida por los fluidos intestinales puede representar de 12 a 17 mg de Zn/L de fluido perdido (40).

El Comité de Expertos de la Asociación Médica Americana considera que, debido a que el Zn plasmático está muy bajo en los niños prematuros, el requerimiento sería de 300 µg/kg/d y que para niños nacidos a término debe ser 100 µg/kg/día (41). En el trabajo de Friel et al se observó la vulnerabilidad a la deficiencia de Zn en niños de muy bajo peso al nacer que recibían una fórmula preparada con solo 40 µg/kg/día (39) (42) (43).

Tabla 1
Comparación de las dosis de Zn según diferentes Sociedades Científicas, para pacientes ADULTOS alimentados con nutrición parenteral

Sociedades Científicas	Zn (mg/día)
AMA, 1979 (ref 39)	2,5 – 4,0
ESPEN, 2004 (ref 43)	3,2 – 6,5
ASPEN, 2001 (ref 42)	2,5 – 5,0
Prelack O, 2001 (ref 44)	
En pacientes críticos, no superar	50 µg/Kg/día
Dosis habituales en Argentina	6,0 – 12

Algunos autores han evidenciado que la adición de 4,9 a 5,6 mg/día de Zn en la NPT promueve mejores niveles de Zn plasmáticos y balance positivo en pacientes graves (44).

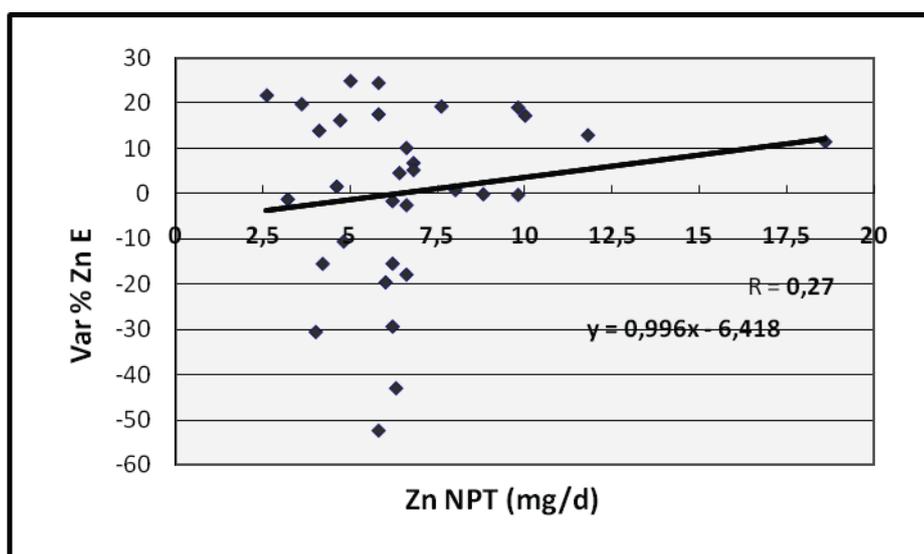
A pesar de que no se conoce el rol del Zn secuestrado durante la fase de respuesta aguda, la importancia del Zn en la cicatrización de las heridas y en la inmunidad, ha llevado a los médicos a suplementar rutinariamente a pacientes catabólicos con altas dosis de Zn (10-30 mg/día), que difieren entre los médicos y son empíricas.

Existen diversas situaciones en las cuales está elevado el requerimiento de Zn, como ser el estrés metabólico, que puede aumentar el requerimiento en 2 mg más por día; las pérdidas elevadas de Zn en los 20 días posteriores a un trauma, las pérdidas por fistulas, que pueden representar varias veces los requerimientos normales. En el caso particular del paciente quemado, que tiene pérdidas muy importantes, los requerimientos pueden llegar hasta 20 mg/día (38).

Un estudio llevado a cabo en Argentina, en pacientes críticos que debían recibir NPT debido a cirugías o patologías gastrointestinales, evidenció que al inicio del tratamiento nutricional, los niveles de Zn plasmático (Zn Pl) eran sumamente variables indicando la respuesta individual de redistribución del Zn corporal de cada paciente a consecuencia del estrés de su patología y, en algunos casos, de la cirugía. Sin embargo, a pesar de las patologías y la gravedad de los pacientes estudiados, sólo 2 de ellos presentaron al inicio del tratamiento valores de ZnPl inferiores al rango de normalidad utilizando como valores de referencia los obtenidos en individuos sanos de Buenos Aires (29) (45). Durante el tratamiento con NPT, no se evidenció correlación entre los cambios en los valores plasmáticos y el Zn administrado en la NPT pese a recibir cantidades superiores a las prescriptas (entre 6,2 y 9,2 mg/día).

La determinación de Zn en sangre entera o en eritrocitos refleja la “historia” nutricional en el período de vida media del eritrocito, por ser incorporado en el momento de la eritropoyesis (29). En el estudio mencionado en el párrafo anterior (28), la variación de los niveles de ZnGR durante el tratamiento con NPT vs el Zn administrado en la NPT mostró una correlación significativa y la ecuación de regresión indicó un punto de corte de 8.1 mg/día de Zn en la NPT, lo cual sugiere que no se debería superar esa cantidad en los pacientes graves. No obstante, los resultados evidenciaron que las variaciones en los niveles de Zn eritrocitario fueron siempre positivas cuando los valores de Zn en la TPN fueron superiores a 10 mg/día, lo que indica que cantidades entre 8,1 y 10 mg/día podrían ser necesarias en algunos pacientes graves para promover mejores niveles de Zn eritrocitario y balance positivo (27) (45).

Figura 2
Variación del Zn eritrocitario (ZnE) en pacientes críticos, en función del Zn administrado por día en la NPT



Estos resultados evidenciaron que a pesar de que el contenido de Zn en las mezclas de NPT fue superior al prescrito, los parámetros bioquímicos no indicaron en estos pacientes un exceso de Zn. Se debe tener en cuenta que existen diversas situaciones en las cuales está elevado el requerimiento de Zn: el estrés metabólico, que puede aumentar el requerimiento de Zn en 2 mg más por día; las pérdidas elevadas de Zn en los 20 días posteriores a un trauma, y las pérdidas por fístulas, que pueden representar varias veces los requerimientos normales (38).

COBRE: funciones, deficiencia e indicadores de estado nutricional

El organismo humano adulto contiene entre 50 y 120 mg de Cu, cantidad mucho menor a la de otros micronutrientes minerales como Zn o Fe. Los órganos con mayor concentración son hígado y cerebro, aunque por su mayor masa, el músculo, piel y esqueleto contienen el 60% del contenido total del organismo (46).

La esencialidad del Cu se debe a su participación en un número importante de proteínas o cuproproteínas con actividad de cuproenzimas que intervienen en reacciones oxidativas, con participación del oxígeno molecular, relacionadas con el metabolismo del hierro, de los aminoácidos precursores de neurotransmisores, del tejido conectivo y con la destrucción de radicales libres (16) (47). En el cuadro 2 se enumeran las más importantes y sus mecanismos de acción (48).

Cuadro 2
Funciones del COBRE y mecanismos de acción

Funciones	Mecanismo de acción
Moléculas unidas al Cu	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Metalotioneína ➤ Albúmina ➤ Transcupreína ➤ Factor V de coagulación ➤ Ligandos de bajo peso molecular: aminoácidos, péptidos. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Transporte intestinal de Zn ➤ Transporte de Zn en la sangre ➤ Transporte intestinal de Zn y Cu ➤ Transporte intestinal de Zn
Enzimas que contienen Cu	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Amino-oxidasas: monoamino-oxidasa, diamino-oxidasa, lisil oxidasa y prolil oxidasa Ferroxidasas: Ferroxidasa I (ceruloplasmina) y ferroxidasa II Monofenol monooxigenasa (Tirosinasa) Dopamina b-hidroxilasa Citocromo-C-oxidasa Metabolismo de la histidina Superóxido dismutasa citosólica Cu/Zn dependiente y extracelular 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Síntesis de melanina ➤ Formación y estabilización del tejido conjuntivo ➤ Metabolismo del Fe ➤ Síntesis de catecolaminas ➤ Síntesis de neurotransmisores ➤ Fosforilación oxidativa ➤ Funciones antialérgicas <p>Antioxidante</p>

Ref 48.

Una pequeña parte del Cu absorbido se une a la albúmina y a otros aminoácidos para ser transportado al hígado, pero la mayor cantidad de cobre circulante es transportado por la ceruloplasmina (Cp), que es una α -2-glicoproteína sintetizada en el hígado.

La identificación de las cuproenzimas ha permitido explicar la sintomatología de la deficiencia de Cu (5) (48), caracterizada, entre otros síntomas, por: neutropenia, anemia ferropénica, alteraciones del tejido conectivo, acromotipia, desmielinización y pancitopenia (49). Estos síntomas se presentan en individuos con diarreas crónicas, en niños prematuros alimentados con fórmulas a base de leche de vaca y en individuos alimentados con NPT que no contiene incorporado el Cu.

La deficiencia de Cu fue la primera de un oligoelemento, que se describió y publicó en 1972 asociada a la nutrición parenteral en pacientes pediátricos (50). Posteriormente, aparecieron deficiencias severas de Cu en pacientes que recibían NPT, pero a los cuales se les suspendió la administración de Cu por presentar alteraciones hepáticas. Spiegel y colaboradores publicaron en 1999 el caso clásico, de un paciente de 32 años con enfermedad de Crohn, que recibió NPT durante 28 años. Por presentar colestasis hepática se le suspendió el Cu y al cabo de 8 semanas desarrolló una deficiencia severa con neutropenia, anemia y trombocitopenia. La autopsia postmortem comprobó que la muerte se había producido por pericarditis hemorrágica, debida a la falta de Cu (51).

Los parámetros hematológicos no son específicos para determinar la deficiencia. Sin embargo, la combinación de neutropenia y anemia microcítica e hipocrómica con un bajo recuento de reticulocitos en presencia de una adecuada dosis de hierro es muy sugestiva de la depleción del Cu. Los niveles de Cu en la circulación están sujetos a un número de influencias hormonales y a la cantidad de ceruloplasmina. La excreción urinaria de Cu es a veces baja en pacientes con deficiencia de Cu, pero no es un índice seguro en pacientes con NPT ya que tanto adultos como niños excretan mayores cantidades de Cu en orina que los controles, debido a la infusión de aminoácidos en sí misma (48).

Fuhrman y col. publicaron el caso clínico de una paciente de 36 años con Síndrome de Intestino Corto que recibía NPT. En esta paciente se suspendió, al igual que el caso anterior, el Cu en la NPT por colestasis e hiperbilirrubinemia. A los 19 meses de NPT sin aporte de cobre la paciente presentó pancitopenia y enfermedad cardíaca progresiva con hipertensión portal y muerte, a pesar que, durante los últimos días, se le aportó el Cu en la NPT (52).

Hurwitz y colaboradores en 2004, publicaron 4 casos de deficiencia de cobre en pacientes pediátricos que recibían nutrición parenteral. Todos habían presentado colestasis (bilirrubina en suero directa o conjugada mayor a 2 mg/dL) por lo que se redujo o suspendió la administración de Cu y Mn, por ser ambos potencialmente hepatotóxicos. Los 4 pacientes presentaron una importante disminución del cobre en suero al suspender o reducir la dosis de Cu (10 μ g/Kg/día) en la nutrición parenteral, y se normalizaron los niveles al volver a administrar cobre a las dosis normales (20 μ g/Kg/día) (53).

Al igual que sucede con otros micronutrientes minerales, la evaluación del estado nutricional con respecto al Cu constituye un campo de la Nutrición en pleno desarrollo, ligado al avance en el conocimiento de sus funciones bioquímicas (7) (5).

Algunas determinaciones de laboratorio disponibles para la evaluar del estado nutricional con respecto al Cu son:

- Volumen corpuscular medio (hematocrito)
- Recuento de reticulocitos
- Recuento de células blancas o plaquetas
- Concentración de Cu en la circulación: plasma o suero
- Ceruloplasmina en suero (Cp)
- Contenido de Cu en eritrocitos

- Contenido de Cu en el cabello
- Excreción de Cu en orina de 24 horas
- Superóxido dismutasa en eritrocitos
- Amino-oxidasa en suero
- Citocromo-C-oxidasa en leucocitos

Requerimientos de Cu en pacientes con NPT

El Cu debe ser utilizado en forma rutinaria en los pacientes que reciben exclusivamente NPT. La dosis debe ser mayor en los pacientes con una depleción preexistente o cuando el estado nutricional del Cu declina durante la terapéutica con NPT. Puede haber pérdidas adicionales de Cu debido a estados de estrés, pérdidas superficiales en pacientes quemados o febriles, pérdidas a través de fístulas biliares o pérdidas a través de drenajes gastrointestinales (54).

No hay acuerdo unánime en las distintas Sociedades Científicas, en relación a la prescripción de Cu en pacientes graves que reciben NPT. La AMA, desde el año 1979 recomienda valores de 0,5 a 1,5 mg/día de Cu (39) como requerimiento intravenoso para los pacientes adultos alimentados por vía parenteral en base a estimaciones del método factorial y 20 µg/kg/día para neonatos y pediátricos (48). Sin embargo, no hay aún acuerdo unánime en las distintas Sociedades Científicas La American Society of Parenteral and Enteral Nutrition (ASPEN) estableció en el año 2002 una dosis diaria Cu de 0,3 a 0,5 mg (42), cifras que representan casi la tercera parte de las aconsejadas por la AMA para pacientes adultos (39) y que son similares a las aconsejadas por otros autores (44). (Tabla 2). En Argentina, la práctica habitual es indicar en la nutrición parenteral de 0,8 a 2 mg/día de Cu, con la que es factible ajustarse a las recomendaciones fijadas por la AMA, para el adulto, sin aparentes efectos adversos.

Tabla 2
Comparación de las dosis de Cu según diferentes Sociedades Científicas, para pacientes ADULTOS alimentados con nutrición parenteral

Sociedades Científicas	Cu (mg/d)
AMA, 1979 (ref 39)	0,5 – 1,5
ESPEN, 2004 (ref 43)	0,3 – 1,3
ASPEN, 2002 (ref 42)	0,3 – 0,5
Prelack O, 2001 (ref 44) En pacientes críticos, no superar	Hasta 0,5 mg/d
Dosis habituales en Argentina	1,0- 2,0

Sin embargo, en función de las evidencias clínicas se sugiere precaución en su administración en las fórmulas parenterales, puesto que podrían administrarse, en algunos casos, cantidades insuficientes para lograr la recuperación o, en otras situaciones, cantidades que podrían producir manifestaciones de toxicidad (38) (55). En consecuencia, se prescriben y preparan las mezclas de nutrición Parenteral con dosis empíricas de Cu. Esta manera de proceder no es la mejor para el enfermo, y en particular, en los pacientes críticos alimentados con NPT se debería efectuar el seguimiento del estado nutricional de los pacientes con respecto al Cu y modificar los aportes en función de las necesidades para alcanzar resultados favorables.

La excreción de Cu ocurre en forma predominante a través del tracto gastrointestinal mediante la secreción de la bilis, aumentando o disminuyendo cuando la administración de Cu se incrementa o disminuye, respectivamente. No se sabe si durante la fase de respuesta aguda el Cu eliminado es mayor que los rangos normales (5) (26).

Sin embargo, al igual que con el Zn, las determinaciones de Cu en muestras biológicas tradicionales como suero, plasma y glóbulos rojos, son propuestas como los indicadores más comunes, pese a que presentan diversos inconvenientes, no existiendo, hasta la fecha, un indicador bioquímico único para establecer el estado nutricional con respecto al Cu. La concentración de Cu en suero varía ampliamente, estando influenciada por la edad, sexo y estado fisiológico, por lo cual no constituye un buen indicador de estado nutricional.

La ceruloplasmina (Cp) es también una proteína de fase aguda, por lo cual puede aumentar en los pacientes críticos durante el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) (56). Durante la respuesta de fase aguda se incrementan los niveles de ceruloplasmina y cobre en suero y el incremento es proporcional a la severidad del proceso inflamatorio. El mecanismo de este incremento de la ceruloplasmina no está claro. Se ha postulado que el aumento durante el SIRS, es parte de un mecanismo no específico de defensa del huésped. Tampoco se sabe si la cantidad de cobre excretado en orina durante la respuesta de fase aguda es mayor a la normal (26) (57).

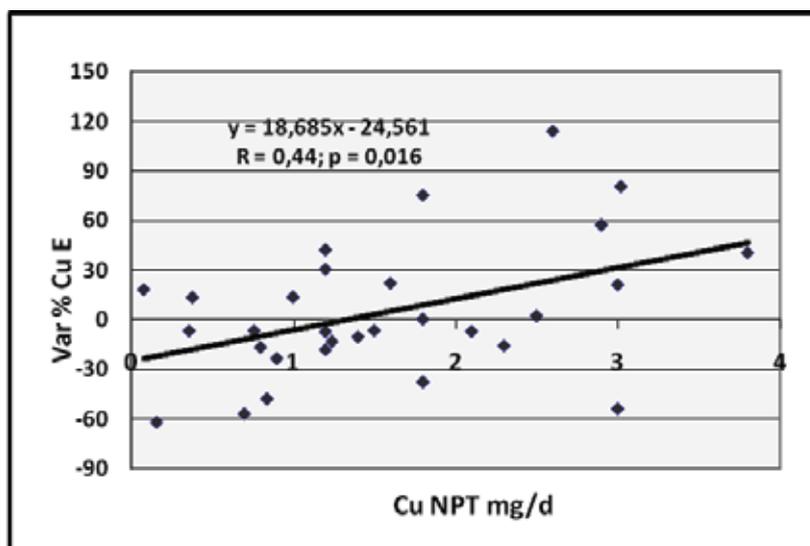
Se ha demostrado que las pérdidas progresivas por heces no se asocian con el aumento de la excreción biliar de Cu y las pérdidas urinarias de Cu tienden a ser bajas. Basado en estos hallazgos el Comité de Expertos de la AMA recomienda 0,3 a 0,5 mg de Cu por día para el mantenimiento. Durante la fase de respuesta aguda, se espera que los niveles del Cu en suero se eleven y se aconseja que los estudios del estado nutricional de Cu incluyan un marcador de la severidad del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. En los pacientes críticos se deben utilizar varios parámetros juntos, tales como el estudio de Cu en suero, ceruloplasmina y proteína-C-reativa (57).

Existen algunos estudios acerca de la evolución de los valores de ceruloplasmina, de Cu en suero y en eritrocitos en pacientes graves que recibieron NPT. Las variaciones de Cu sérico y de ceruloplasmina no presentaron correlación con el Cu administrado en la NPT, lo cual corrobora que el aumento de ceruloplasmina guarda relación con la severidad del proceso inflamatorio del paciente, lo cual enmascara la influencia de otros factores como la dosis de Cu administrada (58).

En cuanto a los valores de Cu eritrocitario, se ha evidenciado que existe correlación significativa con Cu en suero ($p = 0,008$) durante la administración de distintas dosis de Cu en la NPT, lo cual está indicando una regulación metabólica del Cu diferente a la del Zn. Además, las variaciones de los valores de Cu eritrocitario en función del Cu administrado en la NPT evidencian ecuaciones de regresión con alta correlación ($r=0,44$; $p=0,016$) y que en algunos pacientes existieron variaciones negativas en dicho indicador bioquímico cuando el Cu administrado osciló entre 1,2 y 2,4 mg/d, lo cual demuestra que en dichos pacientes las necesidades de Cu fueron más elevadas (45).

Figura 3

Variación del Cu eritrocitario en función del Cu administrado por día en la NPT en pacientes críticos



Efectos adversos y toxicidad del Zn y Cu

Se debe tener en cuenta que tanto el exceso de Zn como el de Cu pueden producir efectos adversos asociados con el deterioro del estado nutricional y alteraciones en la respuesta inmune (47). En función de las evidencias clínicas se sugiere precaución en su administración en las fórmulas para nutrición parenteral puesto que podrían administrarse, en algunos casos, cantidades insuficientes para lograr la recuperación del paciente grave o, en otras situaciones, cantidades excesivas que pueden comprometer la evolución favorable del paciente grave o producir manifestaciones de toxicidad (38) (26).

Las manifestaciones tóxicas del Zn pueden ser desde leves hasta mortales (59). Faintuch et al, publicaron en 1978 el caso de un paciente con NPT que presentó amilasemia asintomática, debida a una sobredosis 20 veces superior a la dosis prescrita. Otro caso publicado fue el de una mujer de 72 años que falleció luego de recibir por vía intravenosa 1,6 g de Zn, como consecuencia de un error en la diálisis. Durante los 47 días previos a su muerte desarrolló: hiperamilasemia, ictericia, colestasis, anemia y trombocitopenia (60).

El exceso de Zn puede producir efectos adversos asociados con el deterioro del estado nutricional con respecto al Cu y al Fe, alteraciones en la respuesta inmune y reducción de las lipoproteínas de alta densidad. El principal efecto tóxico se debe a la interferencia con el metabolismo normal del Cu, provocando una anemia por deficiencia de Cu (24). Los efectos adversos comprobados por exceso de Cu incluyen alteraciones gastrointestinales (dolor epigástrico, náuseas, vómitos, diarrea), daño hepático, interacción con Zn, Fe y Mo, deterioro del estado nutricional con respecto al Zn y al Fe y disminución de la actividad fagocítica de los polimorfo-nucleares. Las manifestaciones más severas incluyen: oliguria, necrosis hepática, colapso vascular, coma y muerte. Se ha observado toxicidad crónica en pacientes con diálisis, a las semanas siguientes de la hemodiálisis con tubos de cobre y en trabajadores de viñedos que utilizan pesticidas con compuestos de Cu (48).

Se deben cuidar particularmente los excesos de Cu en el caso de pacientes con nutrición parenteral que presenten colestasis o compromiso hepático (54), en los que se produce anemia hemolítica y necrosis hepática, que a menudo conducen a un resultado fatal. Esto ha ocurrido con formulaciones, que por error, presentaron dosis 100 a 1000 veces mayores de las requeridas (60). La acumulación hepática y el daño celular, son la consecuencia potencial de la administración crónica de dosis excesivas de Cu en la NPT. Por dicho motivo, se deben tomar precauciones y el cobre estaría contraindicado cuando el paciente presenta enfermedad de Wilson, padece una obstrucción biliar externa o enfermedades que producen colestasis intra-hepática, tales como la cirrosis biliar primaria (24).

Los efectos adversos pueden deberse a que los componentes que se utilizan para preparar las mezclas de NPT suelen estar contaminados con elementos traza no declarados en sus rótulos y en concentraciones variables según el tipo de fabricantes, componentes, lotes, etc., resultando una subestimación de las cantidades de Cu y Zn realmente administradas en relación a las prescritas (55). Por lo tanto, se debe conocer el contenido real de Cu y Zn en las fórmulas de NPT, y efectuar el seguimiento de los pacientes, con objeto de modificar los aportes en función de las necesidades.

Además, las mezclas pueden contaminarse durante la preparación o cometerse errores en las cantidades de nutrientes o fármacos, en dosis mayores o menores a las indicadas por el médico, que pueden provocar deficiencia o toxicidad en los pacientes. Por estos motivos para la preparación deben cumplirse requisitos específicos con el fin de minimizar los riesgos (61) (62).

En diversos trabajos se ha corroborado que los niveles de Zn y Cu en las mezclas de NPT son, en general, superiores a los prescritos para pacientes graves (63) (64). 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, pero no son determinados ni declarados en los productos utilizados en la preparación de las mezclas de NPT. Por lo tanto,

es de suma importancia conocer el contenido real de Cu y Zn en las fórmulas de NPT y efectuar el seguimiento de los pacientes, 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 (64).

Es importante tener en cuenta que el exceso de cobre debe ser evitado en pacientes con alteraciones hepáticas, por lo cual en esos casos el médico suele suprimir en la prescripción la incorporación de este micronutriente, 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 NPT sin Cu (65) (66). Por consiguiente, sería recomendable no suprimir la administración de Cu en la NPT sino reducir la dosis (teniendo en cuenta el aporte de la contaminación) y efectuar el seguimiento bioquímico que en el caso del Cu podría realizarse indistintamente a través de la determinación en suero o en eritrocitos, en función de la elevada correlación encontrada en este trabajo.

Por todo lo antedicho es de suma importancia en pacientes que reciben NPT evitar tanto la deficiencia como los excesos de Zn y Cu, para lo cual se impone utilizar indicadores bioquímicos que alerten acerca de ambos problemas. Sin embargo, la evaluación del estado nutricional con respecto a estos micronutrientes minerales no es fácil y constituye un campo de la Nutrición en pleno desarrollo, ligado al avance en el conocimiento de sus funciones bioquímicas (23). La determinación del elemento traza en estudio en la dieta administrada, no asegura el conocimiento del estado nutricional debido a la existencia de tejidos que actúan como depósito de estos elementos minerales, y a complejos mecanismos homeostáticos que regulan sus metabolismos tanto en condiciones normales como patológicas (22).

A pesar de existir trabajos que administraron cantidades superiores a las aconsejadas de Zn y de Cu, los resultados bioquímicos no indican en esos pacientes un exceso de Zn. Se debe tener en cuenta que existen diversas situaciones en las cuales está elevado el requerimiento de Zn: el estrés metabólico, que puede aumentar el requerimiento basal de Zn en 2 mg/d; las pérdidas elevadas de Zn en los 20 días posteriores a un trauma, y las pérdidas por los fluidos intestinales por fístulas, que pueden representar varias veces los requerimientos normales (11). Por ello, se ha considerado que la adición de 4.9 a 5.6 mg/d podría promover mejores niveles de Zn plasmáticos y balance positivo (64).

Por ello, es muy importante conocer la concentración final de Zn y Cu en las mezclas de NPT y la contribución que representa la contaminación con estos oligoelementos presente en cada uno de los componentes provistos por la Industria farmacéutica para la preparación de la Nutrición parenteral: aminoácidos, vitaminas, agua destilada estéril y sulfato de magnesio (64).

Productos comerciales de microminerales para NPT

En Argentina, tanto el Cu como el Zn, son usualmente agregados en la Nutrición Parenteral, como una mezcla de elementos traza o en soluciones individuales de sulfato de Cu y sulfato de Zn, que permiten administrar dosis mayores o menores en relación con los requerimientos particulares de cada paciente. La práctica habitual es preparar una solución parenteral con 5 mg de Zn/día y 0.8 a 1,5 mg/día de Cu, con la que es factible ajustarse a las recomendaciones fijadas por la AMA, para el adulto, sin aparentes efectos adversos. Se debe tener en cuenta que las dosis indicadas por los médicos en nuestro país, para el paciente crítico suelen ser mayores a las recomendaciones internacionales y a las recomendadas por diferentes autores, especialmente para el Cu (45).

En el mercado existen preparados intravenosos de oligoelementos individuales (zinc, cobre, selenio, manganeso, cromo, molibdeno) y mezclas de oligoelementos, y además vitaminas para adultos y para niños. Las fórmulas de estos compuestos han cambiado a lo largo de los últimos años para adaptarse a las necesidades de los pacientes y al avance de los conocimientos (2).

El Cu es usualmente agregado en la Nutrición Parenteral, como una mezcla de elementos traza o en soluciones

individuales de sulfato de Cu, que permite administrar dosis mayores o menores en relación con los requerimientos particulares de cada paciente.

CONCLUSIONES

- Los pacientes alimentados con Nutrición Parenteral Total pueden presentar alteraciones clínicas por deficiencias o por excesos de zinc y cobre. Se debe cuidar particularmente el exceso de Cu en los pacientes con nutrición parenteral que presenten colestasis o compromiso hepático.
- No hay acuerdo unánime en las distintas Sociedades Científicas, en relación a la prescripción de zinc y cobre en pacientes graves que reciben NPT.
- Se ha corroborado que los niveles de Zn y Cu en las mezclas de NPT son, en general, superiores a los prescritos para pacientes graves, debido a contaminación no prevista y muy difícil de evitar y controlar por parte de la industria durante el proceso de fabricación de los componentes.
- Es de suma importancia conocer el contenido real de Cu y Zn en las fórmulas de NPT y efectuar el seguimiento de los pacientes, con objeto de modificar los aportes en función de las necesidades, para evitar tanto las deficiencias como los excesos, que pueden comprometer la evolución del paciente grave.
- Es deseable efectuar el seguimiento del estado nutricional con respecto a estos micronutrientes minerales, de los pacientes críticos alimentados con nutrición parenteral total, modificando los aportes en función de las necesidades, para alcanzar resultados terapéuticos favorables y no producir deficiencias ni efectos adversos.
- La evaluación del estado nutricional con respecto a estos micronutrientes minerales no es fácil. Algunos trabajos han evidenciado la utilidad de las determinaciones de zinc eritrocitario, y cobre sérico o cobre eritrocitario para controlar los niveles de zinc y de cobre, respectivamente, administrados en la nutrición parenteral a los pacientes graves. Las determinaciones bioquímicas han evidenciado que en algunos casos las dosis recomendadas por las distintas Sociedades Científicas pueden ser insuficientes para cubrir los requerimientos de los pacientes graves comprometiendo se evolución .

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1) Hardy, I.J.; Menéndez, A.M.; Manzanares, W. (2009) Trace element supplementation in parenteral nutrition: Pharmacy, posology, and monitoring guidance. *Nutrition*. 25:1-12.
- (2) Shenkin, A. (2004) Physiological function and deficiency states of trace elements. In *Basics in Clinical Nutrition*, Sobotka, L.; Allison, S.P.; Fürst, P. et al. Edited for European Society for Clinical Nutrition and Metabolism ESPEN. Prague, Czech Republic: House Galen. 371 p.
- (3) ASPEN, Board of Directors: Administration of specialized nutrition support. Section V. (2002) *JPEN*; 26 (5): S18-S22.
- (4) National Institute of Clinical Excellence. (2006) *Nutrition Support in Adults: Oral nutrition support, enteral tube feeding and parenteral nutrition* (cited from: www.rcseng.ac.uk).
- (5) 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.
- (6) Mertz, W. (1998) Review of the scientific basis for establishing the essentiality of trace elements. *Biol. Trace Element Res.* 66: 185-191.
- (7) Pita Martín de Portela, M.L. (1997) En Aplicación de la bioquímica a la evaluación del estado nutricional. Cap. IV. Pita Martín de Portela, M.L.; Río, M.E.; Slobodianik, N.H. Buenos Aires: López Libreros: 96-120.
- (8) Solomons, N.W. (1979) On the assesment of Zinc and Copper nutriture in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 856-871.
- (9) Dietary Reference Intakes. Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids. Cholesterol, Protein and Amino Acids. (2002) Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. The National Academies Press. USA.
- (10) Dietary References Intakes (DRI) for Thiamin, Riboflavin, vitamin B6, Niacin, folate, vitamin B12 and choline. (1998) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary References Intakes, Food and Nutrition

Board&Institute of Medicine, National Academy of Sciences, Washington, DC.

(11) Dietary References Intakes (DRI) for Calcium, Phosphorus, Magnesium, vitamin D and Fluoride. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary References Intakes. (1997) Food and Nutrition Board&Institute of Medicine, National Academy of Sciences, Washington, D.C.

(12) Greene, H.L.; Hambidge, M.D.; Schandler, R.; Tsang, R.C. (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.* 48:1324-42.

(13) Forbes, G, et al. (1997) Micronutrient status in Patients Receiving Home Parenteral Nutrition. *Nutrition* 13: 941-4.

(14) Cousins, R.; Hempe, J.M. Cinc. (1990) In: Present Knowledge in Nutrition, 6th ed., Chap. 28. M.L. Brown. Washington, D.C., USA: Ed. Nutrition Foundation p 289-308.

(15) Rubio, C.; González Weller, D.; Martín-Izquierdo, R.E.; Revert. C.; Rodríguez, I.; Harridson, A. (2007) El zinc: oligoelemento esencial. *Nutr. Hosp.* 22(1):101-7.

(16) O'Dell, B.L. (1990) Copper. In: Present Knowledge in Nutrition, ML Brown. Ed. Nutrition Foundation, 6a ed., Chap. 29: 261-267. Washington, DC.

(17) Aggett, P.J.; Gomerford, J.G. (1995) Zinc and Human health. *Nutr. Rev.* 53:S16-S22.

(18) Cousins, R.J.; Leinart, A.S. (1988) Tissue specific regulation of Zn metabolism and metallothionein gene by interleukin-1. *The FASEB J.* (J2): 2884-90.

(19) King, J.C.; Keen, C.L. Zinc. (1994) Chapter 10. In: Modern Nutrition in health and disease. Shils ME et al. Eighth Edition. Malvern, PA, USA: Lea & Febiger: 214-30.

(20) Prasad, A.S.; Oberleas, D.; Wolf, P.; Horwith, J.P. (1967) Studies on Zinc deficiency: changes in trace elements and enzyme Activities in tissues of Zinc-deficient rats. *J. Clin. Invest.* 46: 549-57

(21) Prasad, A.S. (1991) Discovery of of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 403-12.

(22) Shrimpton, R. (1993) Zinc deficiency, is it widespread but under-recognized?. Focus on micronutrients. *SCN News, United Nations Unies. Subcommittee on Nutrition*, 9: 24-27.

(23) Solomons, N.W. (1991) Zinc, Trace Elementos. En: *Clinical Guide to Parenteral Micronutrition* Thomas G Baumgartner Ed. Chapter 9. Second Edition. USA: Lyphomed; 216-31.

(24) Kay, R.G.; Tasman-Jones, C. (1975) Zinc deficiency and intravenous feeding. *Lancet* (2):605-6.

(25) Grimble, R.F. (2004) Main cytokines and their effect during injury and sepsis. In: *Basics in Clinical Nutrition*, Lubos Sobotka. ESPEN. Prague, Czech Republic: House Galen; 118-24.

(26) Braunschweig, C.A. (1996) Trace elements and the acute Phase response: Implications for Nutrition Support. Postgraduate course. Washington DC, USA: Ed. American Society for Parenteral and Enteral Nutrition:9-20.

(27) Gibson, R.S. (1990) Assessment of Zinc Status. In: *Principles of Nutritional Assessment*. Gibson RS. New York-Oxford: Oxford University Press; USA. p. 542-53.

(28) Jacobs, G.M, Hambidge, K.M.; Stall, C.; Pritts, J.; Nelson, D. (1988) Daily variations in plasma zinc in normal adult women. *Trace Elem. in Man and Anim.* 6: 491-2.

(29) Weisstaub, A.R.; Menéndez, A.M.; Montemerlo, H.; Pastene, H.; Piñeiro, A.; Guidoni, M.E.; Pita Martín de Portela, M.L. (2008) Zinc plasmático, cobre sérico y zinc y cobre eritrocitarios en adultos sanos de Buenos Aires. *Acta Bioquímica Clínica*: 42 (3). 315-23.

Ruz, M.; Cavan K, Bettger WJ and Gibson R. (1992) Erythrocytes, erythrocytes membranes, neutrophils and platelets as biopsy materials for the assesment of zinc status in humans. *Brit J Nutr*; 68: 5115-27.

(31) Pita M de Portela, M.L.; Weisstaub, A.R. (2000) Basal urinary zinc/creatinine ratio as indicator of dietary zinc intake in adult healthy women. *J. Am. Coll. Nutr.* 9: 413-7.

(32) Thomas, W.; Bailey, L.; Kauwell, G.; Lee, D.Y.; Cousins, R. (1992) Erythrocyte metallothionein response to dietary zinc in humans. *J. Nutr*; 122: 2408-14.

(33) Wolf, C.; Rösick, U.; Brätter, P. (2000) Quantification of the meta distribution in metallothioneins of the human liver by HPLC coupled with ICP-AES. *J. Anal. Chem.* 368: 839-43.

- (34) Beisel, W.R.; Pekarek, R.S.; Wannemacher, R.W. (1976) Homeostatic mechanisms affecting plasma Zinc levels in acute stress. *Trace Elem. in Humans Health and Dis.* 1: 87-106.
- (35) Schroeder, J.J.; Cousins, R.J. Interleukin 6 regulates metallothionein gene expression and zinc metabolism in hepatocyte monolayer cultures. (1990) *Proc. Nat. Acad. Sci.* 87: 3137-41.
- (36) Geiger, T.; Andust, T.; Klapproth, J. et al. (1988) Induction of acute phase proteins by IL-6 in vivo. *Eur. J. Immunol.* 18:717-93.
- (37) Myers, M.A.; Fleck, A.; Sampson, B.; Colley, C.M.; Bent, J.; May, G. (1984) Early plasma protein and mineral changes after surgery: a two stage process. *J. Clin. Pathol.* 37:862-6.
- (38) Fleming, C.R. (1989) Trace elements metabolism in adult patients requiring total parenteral nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 49: 573-9.
- (39) 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*; 241 (19): 2051-4.
- (40) Leung, F.Y. (1995) Trace elements in Parenteral Nutrition. *Clinical Biochemistry.* 28:562-6.
- (41) American Medical Association, Department of Foods and Nutrition. Guidelines for essential trace element preparations for parenteral use: A statement by an expert panel (2001) *JAMA* 241: 2051-4.
- (42) ASPEN Board (2002) Guidelines for the Use of Parenteral and Enteral Nutrition in Adult and Pediatric Patients. *JPEN* 25: 31SA.
- (43) Shenkin, A. (2004) Physiological function and deficiency states of vitamins. In: *Basics in Clinical Nutrition*, Lubos Sobotka. ESPEN. Prague, Czech Republic: House Galen; 99-105.
- (44) Prelack, K.; Sheridan, L. (2001) Micronutrient Supplementation in the critically III Patient: Strategies for Clinical Practice. *J. Trauma.* 51:601-20.
- (45) Menéndez, A.M.; Montemerlo, H.; Weisstaub, A.R.; Alloatti, S.; Rusi, F.; Guidoni, M.E.; Casavola, C.; Piñeiro, A.; Pita Martín de Portela, M.L. (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. *Nutr. Hosp.* 20:189-96.
- (46) Linder, M.C.; Wooten, L.; Cerveza, P.; Cotton, S.; Shulze, R.; Lomeli, N. (1998) Copper Transport. *Am. J. Clin. Nutr.* 67: 96S-71S.
- (47) Sandstead, H.H. (1995) Requirements and toxicity of essential trace elements, illustrated by zinc and copper. *Am. J. Clin. Nutr.* 61: 621S-4S.
- (48) Turnlund, J.R. Cooper (1994) Chapter 11. In *Modern Nutrition in health and disease*. Shils ME, Olson JA, Shike M. 8^o Edition. USA: Lea & Febiger; 231-41.
- (49) Johnson, M.A.; Kays, S.E. (1990) Copper: Its Role in Human Nutrition. *Nutrition Today*: 25(1): 6-14.
- (50) Karpel, J.T.; Peden, V.H. (1972) Copper deficiency in long-term parenteral nutrition. *J. Pediat.* 80:32-6.
- (51) Spiegel, J.E.; Willenbacher, R.F. (1999) Rapid development and severe Copper deficiency in a patient with Crohn's disease receiving TPN. *JPEN* 23:169-72.
- (51) Fuhrman, P.; Herrmann, V.; Masidonski, P.; Eby, C. (2000) Pancytopenia after removal of Copper from TPN. *JPEN* 24:361-6.
- (53) Hurwitz, M.; García, M.G.; Poole, R.L.; Kerner, J.A. (2004) Copper Deficiency During Parenteral Nutrition: A Report of four Pediatric Cases. *Nutrition in Clinical Practice*; 19: 305-8.
- (54) Okada, A.; Takagi, Y. (1995) Trace element metabolism in parenteral and enteral nutrition. *Nutrition* 11:106-13.
- (55) Beshgetoor, D.; Hambidge, M. (1998) Clinical conditions altering copper metabolism in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 67: 1017S-21S.
- (56) Harris, E.D.; Percival, S.S. (1990) Copper transport: Insights into a ceruloplasmin-based delivery system. In: Kies C ed. *Copper Bioavailability and Metabolism*. New York, USA Plenum Press; 95-102.
- (57) Boosalis, M.G.; McCall, J.T.; Solem, L.D.; Ahrenholz, D.H.; McClain, C.J. (1986) Serum copper and ceruloplasmin levels and urinary copper excretion in thermal injury. *Am. J. Clin. Nutr.* 44: 899-906.
- (58) Turnlund, J.R.; Jacob, R.A.; Keen, C.L.; Strain, J.J.; Kelley, D.S.; Domek, J.M.; Keyes, W.R.; Ensunsa, J.L.; Lykkesfeldt, J.; Coulter, J. (2000) Long-term high copper intake: effects on indexes of copper status, antioxidant status and immune function in young men. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 1037-44.
- (59) Brocks, A.; Ried, H.; Glazer, G. (1977) Acute intravenous zinc poisoning. *British Medical Journal*; 6073:1390-1.

- (60) Faintuch, J.; Faintuch, J.J.; Toledo, M. (1978) Hyperamylasemia associated with zinc overdosage during Parenteral nutrition. *J.P.E.N.* 5:640-5.
- (61) Marí, A.A.; Jiménez Torres, N.V. (1999) Formulación de unidades nutrientes parenterales. Cap. 18. En: *Mezclas Intravenosas y Nutrición Parenteral*. Jiménez Torres V ed. Valencia, España: CONVASER, 469-501.
- (62) ASPEN, Safe Practice for Parenteral Nutrition. Special Report (2004) *JPEN*; 28: S39-S70.
- (63) Pluhator-Murton, M.; Fedorak, R.N.; Audette, R.; Marriage, B.J.; Yascoff, R.W.; Gramlich, R. (1999) Trace element contamination of Total Parenteral Nutrition. 1 Contribution of Component Solutions. *JPEN* 23: 222-7.
- (64) Menéndez, A.M.; Weisstaub, A.R.; Montemerlo, H.; Rusi, F.; Guidoni, M.E.; Piñeiro, A.; Pita Martín de Portela, M.L. (2007) Contenido de zinc y cobre en los componentes individuales de las mezclas para fórmulas pediátricas de nutrición parenteral total. *Nutr. Hosp.* 22:545-51.
- (65) Spiegel, J.E.; Willenbacher, R.F. (1999) Rapid development and severe Copper deficiency in a patient with Crohn's disease receiving TPN. *JPEN* 23:169-72.
- (66) Fuhrman, P.; Herrmann, V.; Masidonski, P.; Eby, C. (2000) Pancytopenia after removal of Copper from Total Parenteral Nutrition. *JPEN* 24:361-6.

SISTEMAS BIOADHESIVOS DE LIBERACIÓN DE DROGAS **Bioadhesive drug delivery systems**

María Guillermina Volonté

Cátedra Control de Calidad de Medicamentos – Área Ciencias Farmacéuticas -Departamento de Ciencias Biológicas -
Facultad de Ciencias Exactas (UNLP) – calles 47 y 115, B1900AJL La Plata, Argentina. E-mail: kv@biol.unlp.edu.ar

INDICE

Resumen – Summary	56
Introducción	57
Diseño y mecanismos de liberación	58
Bioadhesión y mucoadhesión	59
Mucus	60
Interacciones en bioadhesión	60
Polímeros bioadhesivos	62
Factores que influyen en una óptima bioadhesión	63
Formas farmacéuticas	64
Conclusiones	69
Referencias Bibliográficas	69

RESUMEN

La utilización de la capacidad de ciertas macromoléculas, sintéticas ó naturales, de adherirse a los tejidos del organismo ha llevado a la investigación biofarmacéutica a desarrollar nuevas formas farmacéuticas que, mediante la utilización de este fenómeno de bioadhesión y más específicamente mucoadhesión, mantienen al medicamento fijado en el lugar donde se realiza la liberación y/o absorción del fármaco, prolongando así el tiempo de permanencia y por lo tanto la efectividad del mismo.

En este trabajo se analizarán los objetivos perseguidos con este tipo de formulaciones, los mecanismos de interacción entre el sustrato biológico y los polímeros bioadhesivos y algunos ejemplos de moléculas utilizadas como mucoadhesivos. Se reseñarán los factores que influyen en una óptima bioadhesión y las distintas formas farmacéuticas bioadhesivas, así como sus vías de administración.

Palabras clave: Sistemas de liberación modificada. Bioadhesion y Mucoadhesion. Polímeros bioadhesivos.

SUMMARY

Some natural or synthetic macromolecules are able to remain fixed to body tissues. By taking advantage of this phenomenon, biopharmaceutical research has developed new pharmaceutical forms capable of remain bioadherent or more precisely, mucoadherent, keeping the drug fixed to the site where liberation and/or absorption processes take place. Therefore, these new forms increase the permanency time and effectiveness of the drugs included on them.

In this paper we analyze the objectives with this type of formulation, as well as the mechanisms of interaction between the biological substrate and bioadhesive polymers and some examples of molecules used as mucoadhesive. Also will be outlined the factors that influence on bioadhesion and different bioadhesive dosage forms and their routes of administration.

Key words: Modified drug delivery systems. Bioadhesion and mucobioadhesión. Bioadhesive polymers.

INTRODUCCIÓN

Entre los objetivos de la investigación biofarmacéutica se encuentra el lograr acciones terapéuticas más selectivas, duraderas y con menor número de efectos adversos, es decir, conseguir optimizar las condiciones básicas de todo medicamento: Eficacia y Seguridad. Por ello la importancia de la búsqueda de novedosas formas de administración, que a su vez supongan un beneficio para el paciente, ya que podrían reducir la dosis incluida en el medicamento, disminuir los efectos no deseados, secundarios y tóxicos y mejorar la pauta posológica, a través de una vía de administración más cómoda con reducción del número de administraciones diarias.

Así surgieron las formas farmacéuticas de:

Liberación Retardada, donde el fármaco se libera masivamente, pero no de forma inmediata a su administración, sino al cabo de un cierto tiempo, ya que la velocidad de liberación se retrasa en el tracto gastrointestinal gracias a un recubrimiento especial que debe destruirse mediante disolución ó hidrólisis, por ejemplo, comprimidos ó cápsulas gastroresistentes. De esta manera se está protegiendo al organismo, en especial a la mucosa gástrica, de efectos no deseados del principio activo, el cual se liberará y absorberá en el intestino. Pero también puede precisarse un recubrimiento gastroresistente para evitar la alteración de un principio activo que se degrade en medio ácido.

Liberación Prolongada ó extendida, donde luego de la liberación inmediata de una dosis inicial de principio activo, suficiente para iniciar la acción, se continúa liberando, en forma lenta y a una velocidad no siempre igual a la de eliminación, cantidades que aseguran niveles plasmáticos terapéuticos durante varias horas (6-8 hs)

Liberación Sostenida, donde después de la liberación inicial de fármaco en cantidad necesaria para alcanzar la respuesta farmacológica, se produce una liberación en cantidad adecuada para que la velocidad de absorción sea igual a la de eliminación durante un período prolongado, normalmente 24 hs.

Actualmente se prefiere el término más general de Formas Farmacéuticas ó Sistemas de Liberación Modificada, donde se incluyen todas aquellas formas farmacéuticas que en su diseño intervienen modificaciones en el proceso tecnológico ó en la utilización de excipientes especiales ó cualquier otro artificio que permita modular la velocidad de liberación del principio activo, aumentando ó disminuyendo la velocidad de disolución del mismo en los fluidos biológicos. Estas modificaciones pueden ser determinantes del lugar de liberación (Formas o Sistemas de Liberación Diferida) o del control de la liberación del fármaco (Formas o Sistemas de Liberación Controlada)

Sistemas de Liberación Diferida, en éstos el principio activo se libera en determinados tiempos ó en determinadas zonas a partir de unidades de liberación inmediata, las cuales constituyen una única forma de dosificación. Un

ejemplo son las cápsulas de gelatina dura, que contienen microgránulos recubiertos, cuya cubierta se disgrega, una vez liberados de la cápsula, a diferentes tiempos o en diferentes tramos del aparato digestivo.

Sistemas de Liberación Controlada, en éstos la liberación del principio activo es modulada de tal forma que se mantengan constantes en el tiempo los niveles plasmáticos terapéuticos. No solo permiten la prolongación del tiempo de cesión del fármaco, logrando una mayor duración de los niveles plasmáticos eficaces, sino que además controlan su liberación para que ésta se realice de acuerdo con una cinética preestablecida y reproducible.

Para poder avanzar en el diseño de estos Sistemas de liberación fue muy importante el conocimiento de nuevas sustancias poliméricas, que son la base de la formación de sistemas matriciales y reservorios que controlan la liberación y también fue muy importante el conocimiento de los factores fisiológicos implicados en el funcionamiento de estos sistemas de liberación.¹⁻³

DISEÑO Y MECANISMOS DE LIBERACIÓN

Entre las Formas Farmacéuticas de Liberación Modificada tenemos una serie de sistemas basados en mecanismos distintos de diseño y liberación. El proceso de liberación que interviene con mayor frecuencia en estos sistemas es la difusión, con múltiples mecanismos capaces de controlarla, aunque por otro lado cuando el compuesto activo se encuentra disperso en un material polimérico, éste se va erosionando con el tiempo, permitiendo así la liberación del fármaco. En este tipo de sistemas los polímeros biodegradables son gradualmente absorbidos por el organismo y la bioerosión que se produce puede ser en volumen o superficial.

En cuanto al diseño, los más utilizados son:

Sistemas terapéuticos por reservorio: Son dispositivos que ceden el principio activo de modo continuo en una cantidad fija predeterminada, cinética de orden cero, durante un tiempo fijo. Pueden ser de acción sistémica (oral, transdérmica ó subcutánea) ó local (ocular ó uterina). Entre las de acción sistémica orales podemos mencionar a la Bomba osmótica simple, Sistema Oros (Oral Release Osmotic System) y Gits (Gastrointestinal Therapeutic System). Son comprimidos recubiertos con una cubierta protectora y una membrana semipermeable transparente con un orificio calibrado, de diámetro entre 200-400 µm. Contienen dos partes: la masa medicamentosa y el núcleo osmótico, sin principio activo. El agua del tracto gastrointestinal penetra a través de la membrana semipermeable, el flujo es constante y depende del espesor y permeabilidad de la membrana y de la presión osmótica del reservorio, en él se forma una solución saturada. La presión hidrostática generada en el interior del reservorio produce la liberación de la solución saturada a través del orificio a velocidad constante. La velocidad de liberación será constante mientras quede remanente de sustancia no disuelta en el reservorio. Cuando se agota la solución de fármaco se diluye y la velocidad de cesión disminuye.

Existe otro sistema de bomba osmótica, llamada Oros Push-Pull, que es adecuada para sustancias de escasa solubilidad que se administran como suspensión. El interior consta de dos compartimentos separados por una membrana flexible. El compartimento superior ó interno contiene el fármaco en suspensión y comunica con el orificio de salida. El compartimento inferior ó externo contiene el agente osmótico sólido.

Los sistemas de acción sistémica transdérmicos son semejantes a un apósito que se adhiere sobre la piel y proporciona, a partir de un reservorio, por diversos mecanismos de control, cantidades determinadas de fármaco por unidad de tiempo, que penetran por difusión a través de la piel y pasan a la circulación general.

Entre los sistemas de acción local ocular, tenemos los denominados Ocusert, que son sistemas de liberación controlada por membrana. Y entre los de uso uterino, los dispositivos intrauterinos que llevan fármacos incorporados en un reservorio y recubiertos por una membrana de control, por ejemplo para progesterona.

Sistemas matriciales: Utilizan matrices hidrófobas, no erosionables e hidrófilas. Estos últimos poseen elevada proporción de sustancias hidrófilas gelificables, por ejemplo: carbopol, éteres de celulosa, etc. La secuencia de liberación del fármaco es la siguiente: el fármaco superficial se libera con rapidez, luego se forma una capa de gel alrededor del comprimido, se produce la difusión del fármaco en la capa de gel y luego la disolución progresiva del gel y la gelificación de nuevas capas. La incorporación de sustancias solubles, lactosa ó manitol, incrementan la velocidad de cesión, por formación de canalículos. La incorporación de sustancias insolubles disminuye la velocidad de cesión al dar mayor consistencia al comprimido, por ejemplo fosfato cálcico, silicatos, etc. Estos Sistemas pueden ser (a) *Flotantes*, llamados así porque tienen una densidad inferior a 1,000 o sea menor que la del jugo gástrico (1,004 – 1,014), por agregado de sustancias hidrófobas de densidad inferior, por ejemplo alcohol cetílico, mirístico, esteárico, mono y diestearato de glicerilo, aceites hidrogenados, etc. Al poder mantenerse flotando en la superficie del líquido gástrico no son afectados por el vaciamiento gástrico. La flotabilidad es el resultado del aumento del volumen por hidratación del polímero y por la porosidad del comprimido no hidratado, que depende en parte de la fuerza de compresión. (b) *Multicapas*, formados por capas de carboximetilcelulosa con el fármaco y capas de carboximetilcelulosa reticulada, que es insoluble. En el tracto gastrointestinal las capas gelifican y se hinchan formando una membrana coloidal que regula la cesión del principio activo. (c) *Bioadhesivos*, que utilizan polímeros bioadhesivos, que son moléculas flexibles, con numerosos grupos hidrofílicos, que se esponjan en medio líquido y difunden a través de las moléculas de mucina formando puentes de hidrógeno, ejemplos carboximetilcelulosa, carbopol, alginato de sodio, hidroxipropilcelulosa, etc.⁴

BIOADHESIÓN Y MUCOADHESIÓN

El concepto de Bioadhesión se comenzó a aplicar en los sistemas de liberación de drogas durante los años 80s y describe la capacidad de ciertas macromoléculas, sintéticas ó naturales, de adherirse a los tejidos del organismo, aumentando así la biodisponibilidad y los efectos locales o sistémicos de las drogas^{5,6}. No habrá bioadhesión real sin que se establezca una interrelación entre algunas agrupaciones químicas concretas de los polímeros y los tejidos biológicos, que incluya una interpenetración de cadenas. Teniendo en cuenta que la mayoría de las vías de administración de fármacos están revestidas de una capa de mucus, surgió la idea de adaptar el fenómeno de bioadhesión a la fijación de la forma farmacéutica a una zona concreta del organismo, desde donde se liberará el fármaco. La idea de usar este fenómeno como vía de administración de drogas es muy simple: moléculas bioadhesivas son incorporadas dentro de algún tipo de formulación farmacéutica junto con el principio activo. La formulación se adhiere a la membrana biológica y la droga se libera hacia el sitio de absorción con el consiguiente aumento en su biodisponibilidad. Este fenómeno se llamó Mucoadhesión, dado que una de las superficies es una membrana mucosa (capa celular) ó bien la capa de mucina que recubre esta membrana superficial. A las correspondientes formas de administración que se fijan a las mucosas se les denominan Mucoadhesivas, siendo su objetivo principal mantenerse fijadas en el lugar donde se realiza la liberación y/o absorción del fármaco, prolongando su tiempo de permanencia.

La investigación y el desarrollo de las formas bioadhesivas es de suma importancia ya que con ellas se intenta lograr objetivos como la localización del sistema medicamentoso en una región determinada del organismo, superando hasta cierto punto, los procesos naturales de eliminación local y/o evacuación de las cavidades. Por otra parte se logra el incremento del tiempo de permanencia del medicamento en dicha región, por disminución de la velocidad de tránsito, consiguiendo un aumento neto del tiempo de efectividad del medicamento y un aumento en su biodisponibilidad. Se optimiza la absorción por incorporación a la forma de administración de promotores de absorción, modificadores de pH, etc., logrando una mejoría sustancial en el contacto del fármaco disuelto con la mucosa a través de la cual se realiza el fenómeno de absorción. Se logra formularlos como sistemas de liberación prolongada ó controlada de la sustancia activa, posibilitando la administración de sustancias de fácil degradación (péptidos, proteínas) pues al lograrse el contacto íntimo entre mucoadhesivo y mucosa se minimiza la alteración de estas sustancias por el medio biológico del entorno.⁷

Por otra parte las formas mucoadhesivas poseen otras ventajas que justifican su creciente interés, como por ejemplo, la posibilidad de utilizar diversas vías de administración con efectos sistémicos y/o locales. Los lugares poten-

cialmente aptos para la aplicación de estos sistemas son: cavidades gastrointestinal, rectal, bucal, nariz y vía respiratoria, ojo y zona vaginal. Todas ellas con una capa externa mucosa tapizada por mucus. Otra ventaja es la versatilidad para desarrollar diversas formas farmacéuticas, adaptadas a las características fisicoquímicas del fármaco y a la vía de administración, las cuales podrán otorgar una respuesta más beneficiosa a las necesidades terapéuticas del paciente. Existen comprimidos, formas multiparticulares (pellets, micro y nanopartículas), pomadas, geles y películas ó parches mucoadhesivos.

MUCUS

El mucus es una secreción viscosa, translúcida que forma una capa continua, delgada y adherente en la superficie de la mucosa epitelial, cuya composición y espesor varía considerablemente dependiendo de la especie animal, de la ubicación anatómica y del estado fisiopatológico del individuo. Las funciones fundamentales del mucus son las de lubricar y proteger las células epiteliales de agresiones de tipo mecánico ó químico y de la degradación bacteriana. El mucus está en constante renovación habiéndose establecido un equilibrio dinámico entre la cantidad continuamente secretada por las células y la pérdida por acción mecánica, proteólisis o por solubilización de las moléculas de mucina. En su composición se destacan las mucinas, glicoproteínas de alto peso molecular, capaces de formar geles de alto contenido acuoso, además posee sales inorgánicas, proteínas y lípidos.⁸

Las moléculas de glicoproteínas son con las que tiene que interactuar el preparado farmacéutico. Tienen un esqueleto peptídico de alrededor de 800 aminoácidos, cuyos restos hidroxílicos establecen uniones glicosídicas con cadenas oligosacáridicas, que contienen entre 2 y 20 azúcares (galactosa, fucosa, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina, ácido siálico) Debido a este ácido siálico y a los grupos sulfato de algunos azúcares, las moléculas de mucina se comportan como un polielectrolito aniónico, esta propiedad es de suma importancia en relación con la adhesividad de las formas farmacéuticas.^{3,9-12}

INTERACCIONES EN BIOADHESIÓN

El conocimiento de los mecanismos de interacción entre el sustrato biológico y los polímeros bioadhesivos es fundamental para el desarrollo de estos sistemas farmacéuticos. Existen dos tipos de interacciones:

Interacciones físicas ó mecánica. Se producen a través del contacto íntimo entre el polímero bioadhesivo y la superficie irregular del mucus. En la interfase de contacto se origina una interpenetración de las moléculas del polímero en el gel del mucus dando lugar a uniones semipermanentes, no específicas, no propiamente bioadhesivas pero que suponen una primera fase que promueve la posterior interacción química, propiamente bioadhesiva. Para favorecer esta unión serán factores importantes: la fluidez y flexibilidad molecular del polímero, la viscosidad del bioadhesivo y la rugosidad del sustrato.

Interacciones ó enlaces químicos. El establecimiento de enlaces químicos primarios, tipo covalente ó iónico, entre las dos entidades reaccionantes, originan enlaces muy estables de interés en campos como la odontología y la ortopedia. Los enlaces químicos secundarios, de menor energía, confieren a la bioadhesividad transitoriedad, lo cual es beneficioso, comprenden *interacciones atractivas* debido a fuerzas de Van der Waals, atracciones electrostáticas, debido a que hay una doble capa de cargas eléctricas en la interfase entre el bioadhesivo y el tejido biológico, por una transferencia electrónica por el contacto entre el bioadhesivo y las cadenas de glicoproteínas del mucus, enlaces de hidrógeno e interacción hidrofóbica y también *interacciones repulsivas* que ocurren por la repulsión electrostática y estérica. Para que pueda ocurrir mucoadhesión las interacciones atractivas deben ser mayores que las repulsivas.

En resumen, el proceso de mucoadhesión compromete tres zonas, la superficie del sistema mucoadhesivo, la superficie de la mucosa biológica y la capa interfacial entre las dos superficies, la cual está integrada originariamente por mucus. Un íntimo contacto entre el mucus y la sustancia bioadhesiva inicia el proceso que es seguido por interdifu-

sión e interpenetración de ambas fases (mucus y sustancia adhesiva) formando varios enlaces que comprenden interacciones electrostáticas e hidrofóbicas, puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals. Esta es la llamada Teoría de la Difusión para explicar el fenómeno de la bioadhesión, el polímero es el primero que produce un íntimo contacto con el mucus y con el tiempo el gradiente de concentración a través de la interfase causa la difusión de las cadenas del bioadhesivo dentro de la capa de mucus y también la difusión de las cadenas de glicoproteínas del mucus, dentro del polímero.⁸

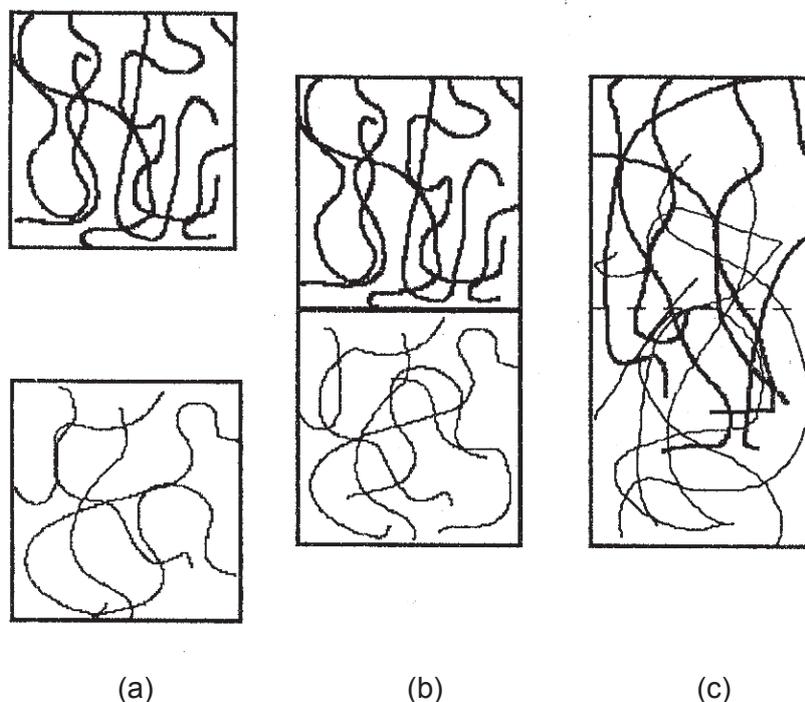


Figura 1. Representación esquemática de la Teoría de Difusión de la adhesión. (a) capa superior (mucus) e inferior (bioadhesivo) antes del contacto; (b) capa superior e inferior exactamente en el momento del contacto; (c) capa superior e inferior después del contacto, luego de un determinado período de tiempo.

Existen otras teorías que intentan explicar el fenómeno de la mucoadhesión, aunque cada una de ellas solamente puede explicar un limitado número de las distintas interacciones ya mencionadas, que constituyen los enlaces en la bioadhesión. Para la Teoría de la Deshidratación los materiales que están disponibles para fácilmente gelificar en un ambiente acuoso, cuando se ponen en contacto con el mucus pueden causar su deshidratación debido a la diferencia de presión osmótica. El gradiente de concentración extrae el agua hacia la formulación hasta que se alcanza el balance osmótico. Este proceso conduce a la interacción de la formulación con el mucus y puede así aumentar el tiempo de contacto con la membrana mucosa. En este caso es el movimiento del agua el que logra la consolidación del enlace bioadhesivo y no la interpenetración de las cadenas macromoleculares. Sin embargo esta teoría no se podrá aplicar para formulaciones solidas o altamente hidratadas.¹²

La Teoría Electrónica está basada en la premisa de que tanto el sistema mucoadhesivo como la membrana mucosa poseen cargas eléctricas opuestas y cuando ambos materiales se ponen en contacto hay una transferencia de electrones que establece una doble capa electrónica en la interface, donde las fuerzas de atracción dentro de esta doble capa, determinan la fuerte unión mucoadhesiva.¹²

En la Teoría de Adsorción se hace hincapié en las interacciones químicas secundarias, como fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno, atracciones electrostáticas o interacciones hidrofóbicas.¹²

La Teoría de la Fractura, es quizás la más utilizada para explicar este fenómeno. Se basa en la fuerza requerida para separar dos superficies luego que se ha establecido la adhesión. La fuerza de fractura es equivalente a la fuerza de la adhesión, cuyo cálculo involucra la relación entre la fuerza máxima de separación y el área superficial total involucrada en la interacción adhesiva. Esta teoría no tiene en cuenta la interpenetración o difusión de las cadenas del polímero. Es apropiada para calcular la rigidez del material bioadhesivo que se utilizará en las formulaciones.^{12,13}

Por último, la Teoría Mecánica considera que la adhesión se debe al llenado de las irregularidades de la superficie rugosa de la mucosa con un líquido mucoadhesivo. Tales rugosidades incrementan el área interfacial disponible para las interacciones, ayudando así a disipar la energía producida.^{8,14}

Ninguna de estas teorías por si sola puede explicar el fenómeno de la mucoadhesión, el cual ocurre en diferentes situaciones. Sin embargo, la comprensión de estos mecanismos en cada instancia, puede ayudar en el desarrollo de nuevos productos mucoadhesivos.

POLÍMEROS BIOADHESIVOS

Todo sistema bioadhesivo debe sus propiedades a la inclusión de uno ó varios tipos de moléculas poliméricas que en condiciones apropiadas, dependientes de las características químicas y estructurales del polímero y de los factores fisiológicos, son capaces de establecer interacciones con la superficie biológica, reteniendo así la forma farmacéutica que contiene al fármaco. Las moléculas estudiadas como mucoadhesivas son numerosas y con distintas características.

Tabla 1. Clasificación cualitativa de la capacidad adhesiva de polímeros bioadhesivos

Capacidad adhesiva	Polímero
Buena ó Excelente	Acido poliacrílico, Alginato sódico, Carbopol, Carboximetilcelulosa sódica, Carragenato, Goma Guar, Hidroxietilcelulosa, Metilcelulosa, PEG de peso molecular alto, Poliacrilamida
Mediana	Acido poliacrílico reticulado con sacarosa, Acido polimetacrílico, Gelatina, Carbopol base con vaselina/parafina hidrofílica, Goma de karaya, Hidroxipropilcelulosa
Pobre	Acacia, Acido algínico, Agar-agar, Amilopectina, Carboximetilcelulosa cálcica, Polihidroxietilmetacrilato, Polietilenglicol, Polivinilpirrolidona, Carragenato degradado, Dextranos

Existe una primera generación de materiales mucoadhesivos, no específicos, constituida por moléculas naturales o sintéticas hidrofílicas, conteniendo numerosos grupos funcionales que generan puentes de hidrógeno, tales como los grupos carboxílicos, hidroxilos y aminos. Ejemplos de este tipo de materiales son los polímeros derivados del ácido poliacrílico (carbomers), quitosan, alginatos y derivados de la celulosa. Pueden ser catiónicos, aniónicos y no iónicos.

Los materiales llamados de segunda generación son una alternativa de bioadhesivos a los no específicos, debido a que reconocen y se unen o adhieren a determinadas estructuras químicas específicas, tanto sobre la superficie de las células como del mucus, algunos ejemplos son las lectinas, glicoproteínas de origen vegetal, como la lectina del tomate, que reconocen diferentes combinaciones de azúcares⁵, así como los anticuerpos, los cuales debido a su alta especificidad pueden ser una racional elección como polímero ligando, en el desarrollo de mucoadhesivos a sitios específicos, estrategia utilizada, por ejemplo, para tejidos tumorales.¹⁵

Aunque no existe el polímero mucoadhesivo óptimo los derivados del ácido poliacrílico muestran algunas propiedades ventajosas porque no se absorben y no son tóxicos, protegen a la droga de una degradación proteolítica, mejoran el transporte de la droga a través de la barrera epitelial y aumentan el tiempo de residencia de la droga en el sitio de absorción.¹⁶

Para evaluar el comportamiento de un sistema de liberación bioadhesivo se han desarrollado test in vitro/ex vivo que contribuyen al conocimiento de la permeación, liberación, compatibilidad, estabilidad mecánica y física, interacción superficial entre la formulación y la membrana mucosa, así como la unión bioadhesiva.¹² Estos test pueden simular un número de rutas de administración incluidas la oral, bucal, periodontal, nasal, gastrointestinal, vaginal y rectal. Los test más relevantes son los que utilizan técnicas con intestinos evertidos o no evertidos de ratas, los que miden la fuerza mucoadhesiva, como la ruptura a la tracción, que utilizan un analizador de textura. Por otra parte existen métodos reológicos que usan medidas viscosimétricas para analizar macroscópicamente la interacción formulación-mucina. Para analizar las interacciones moleculares involucradas en la mucoadhesión se utilizan técnicas espectroscópicas de baja frecuencia con mediciones de las propiedades dieléctricas, así como técnicas que utilizan biosensores ópticos, microscopía electrónica o de fuerza atómica.

FACTORES QUE INFLUYEN EN UNA ÓPTIMA BIOADHESIÓN

Peso Molecular. Existe un peso molecular preferente del polímero al cual la mucoadhesión es máxima. La interpenetración ó difusión de las moléculas poliméricas se ve favorecida en polímeros de bajo peso molecular, en tanto que el entramado es propicio para los de alto peso molecular. Pero en realidad el peso molecular no parece ser un parámetro determinante, a no ser en la serie de un compuesto concreto.

Estructura química y tipo de grupos funcionales. Las moléculas de mucina están cargadas negativamente a pH neutro por tanto, debido a las fuertes interacciones que se establecen entre electrolitos de carga contraria, los policationicos podrían ser excelentes mucoadhesivos a pH neutro, por el contrario a bajos valores de pH, donde la mucina no se encuentra cargada, los policationicos serán poco efectivos. A pH ácido, los polianiónicos son buenos mucoadhesivos por su capacidad de formación de puentes de hidrógeno con numerosos grupos hidroxilos de los carbohidratos de la mucina. Los polianiónicos débiles, por ejemplo el ácido poliacrílico, están protonados a pH bajo comportándose como donadores de protones para los puentes de hidrógeno. A pH neutro hasta los polianiones más débiles están totalmente ionizados y la interacción con la mucina, electronegativa, es siempre repulsiva.¹⁷

Flexibilidad. La flexibilidad de las cadenas de un polímero es importante para la interpenetración y el entramado. Es decir, deben tener la flexibilidad suficiente como para penetrar la malla mucosa o hendiduras del tejido. En general la movilidad y flexibilidad de un polímero está relacionada con sus coeficientes de viscosidad y de difusión.¹⁸

Concentración del polímero bioadhesivo. Es muy importante en el desarrollo de una intensa unión. Cuando el

polímero se encuentra humedecido, altas concentraciones del polímero controlan la liberación de la dosis de fármaco de la formulación, pero manifiesta pequeña adhesión con el mucus porque el polímero adquiere una conformación replegada, no disponiendo de grupos suficientes para el establecimiento de interacciones adhesivas. Si la concentración decrece, las uniones se intensifican. Sin embargo, una concentración muy baja favorece la interpenetración pero la unión es inestable debido al escaso número de moléculas que penetran por unidad de volumen. Para formas secas se necesitan concentraciones elevadas de los polímeros para potenciar la fuerza de adhesión. En realidad, para cada polímero hay una concentración crítica, por encima de la cual el polímero no produce adhesión por un significativo repliegue de su estructura.¹⁸

Factores de tipo fisiológico. La renovación de las moléculas de mucina de la capa de mucus es importante al menos por dos razones: (a) esta renovación limita el tiempo de residencia de los mucoadhesivos en la capa de mucus. Independientemente de la intensidad de la fuerza adhesiva son despegados de la superficie a causa de la renovación natural de la mucina; (b) la renovación de mucina provoca un incremento sustancial de moléculas solubles de mucina. Estas interaccionan con el sistema mucoadhesivo antes de que tengan la oportunidad de realizarlo con la capa de mucus, lo que supone un hecho desfavorable a la mucoadhesión con la superficie de los tejidos. La renovación de la mucina también depende de otros factores como ser la presencia de alimentos.

Los estados patológicos. Se sabe que las propiedades fisicoquímicas del mucus se modifican en el curso de una enfermedad. Por ejemplo: úlceras gástricas, colitis ulcerativa, fibrosis quística, resfriado común, infecciones bacterianas o fúngicas del aparato genital femenino, infecciones de los ojos, etc. Dado que los mucoadhesivos deben usarse en estados patológicos, las características de los mucoadhesivos deben evaluarse bajo las mismas condiciones.

FORMAS FARMACÉUTICAS

Conceptualmente la forma farmacéutica bioadhesiva (o sistema bioadhesivo) se concibe como la inmovilización de un sistema portador del fármaco, sea en su lugar de acción o a nivel de la membrana biológica que permite su absorción máxima. Si la acción es local, el aumento de la concentración de principio activo durante un tiempo prolongado conlleva un aumento de la eficacia terapéutica. Si la acción es sistémica la inmovilización prolongada de una concentración adecuada de fármaco permite el paso de cantidades importantes de principio activo a través de la membrana, evitando pérdidas propias de ciertas vías de administración.^{19,20}

El concepto de inmovilización puede aplicarse a diferentes membranas, por ello el desarrollo de formas mucoadhesivas pueden ser destinadas a la administración sobre la mucosa bucal, gingival, gastrointestinal, nasal, vaginal, ocular y rectal.^{21,22}

Administración bucal. Es una de las vías de administración más estudiadas debido a sus ventajas: escaso contenido de enzimas degradativas, permeabilidad muy aceptable, altamente vascularizada y ausencia de efecto del primer paso. La utilización de formas farmacéuticas tradicionales como geles, soluciones, comprimidos solubles, enjuagues bucales, etc. han sido poco eficientes para el tratamiento de afecciones bucales, como la Candidiasis oral. Esta falta de efectividad se debe a la liberación inmediata de toda la dosis y a la rápida eliminación del principio activo desde el sitio de acción. En función de ello se han estudiado sistemas bucoadhesivos de liberación sostenida de drogas con cualidades farmacéuticas que permitirían aumentar la eficiencia de tratamientos locales en la cavidad bucal.²³⁻²⁵

Fármacos de naturaleza peptídica, como insulina y oxitocina, entre otros, han sido estudiados por esta vía, más ventajosa al no poseer la cavidad bucal las enzimas peptidasas que se encuentran en estómago e intestino delgado. Para esta zona resultan interesantes las formas de administración mucoadhesivas como parches, comprimidos y geles.¹⁸

Los parches mucoadhesivos se presentan como sencillos discos adhesivos o bien sistemas compuestos por láminas superpuestas, que serán convenientemente fijados a la membrana mucosa durante un tiempo prolongado. El

sistema puede estar diseñado de modo que el fármaco que se va liberando sea simultáneamente absorbido a través de la mucosa bucal. Este tipo, denominado sistema de liberación unidireccional, libera el principio activo solo hacia la zona de la mucosa bucal a la que está adherido, consiguiendo así una acción sistémica. Presentan una capa protectora adhesiva o impermeable para evitar la liberación del fármaco en otra dirección. Los sistemas de liberación bidireccionales permiten la liberación del fármaco en dos sentidos, es decir hacia la zona mucosal ocupada por el bioadhesivo y en dirección opuesta, hacia la cavidad oral o la saliva, permitiendo una acción localizada. El polímero adhesivo puede desempeñar la función de portador de fármaco, actuar como vínculo adhesivo entre la capa cargada de fármaco y la mucosa o bien el disco que contiene el fármaco puede estar fijado a la mucosa por medio de una capa protectora adhesiva. El polímero utilizado como adhesivo puede ser alguno de los habituales para comprimidos ó geles: hidroxipropilcelulosa, ácido poliacrílico, combinaciones de ambos, polimetacrilatos, otros derivados de la celulosa, etc. El tamaño del sistema es variable: 10-15 cm², prefiriéndose la forma elipsoidal, más pequeña, que se coloca en diversas zonas, como la labial, bucal, sublingual y gingival. La aceptación por el paciente se mejora si al tamaño menor se añade una alta flexibilidad, prerrequisito para perfeccionar la adhesión y prevenir molestias locales.²⁶

Comprimidos bucales bioadhesivos, diseñados como comprimidos de liberación controlada, modificados en su formulación para permitir la bioadhesión y que de acuerdo a su objetivo terapéutico podrán ser locales o sistémicos. Los modelos matriciales incluyen el principio activo en un polímero bioadhesible que una vez adherido libera el fármaco por hinchamiento y erosión. Comprimidos bicapa han sido desarrollados por Nagai y Mashida²⁷ para tratamiento de estomatitis aftosa. En la primera capa adhesiva formada por carbopol 934 e hidroxipropilcelulosa, se encuentra incorporado el activo, acetónido de triancinolona, la segunda capa, inerte, se elabora con hidroxipropilcelulosa y lactosa. El comprimido se coloca con la capa activa sobre el afta. Utilizando el mismo soporte adhesivo se diseñaron otros comprimidos nucleados para calmar el dolor de muelas, que por una cara deja al descubierto el núcleo. Este está compuesto por lidocaína y una mezcla 1:2 de hidroxipropilcelulosa y carbopol 934, la cubierta añade estearato de magnesio en partes iguales con la mezcla anterior de polímeros. Los comprimidos tienen 2 mm de espesor por 10 mm de diámetro externo, el núcleo centrado alcanza los 6 mm, permite la ingesta de líquidos así como el habla sin mayor dificultad²⁸

Se ha estudiado también la inclusión en comprimidos bicapa de nistatina para el tratamiento de la Candidiasis oral²⁹. El diseño propone una liberación inmediata de una dosis de ataque, mantener el dispositivo en el sitio de acción durante un tiempo prolongado y lograr la liberación modulada del principio activo durante el tiempo que el comprimido permanezca adherido. Los comprimidos constan de una capa de liberación inmediata compuesta por lactosa y nistatina, la segunda capa compuesta por una mezcla de carbopol / hidroxipropilmetilcelulosa y nistatina, que es la responsable de la mucoadhesión y la modulación de la liberación del principio activo.

Comprimidos bioadhesivos conteniendo morfina, colocados entre el labio inferior y la encía por 6 hs. presentan una biodisponibilidad de morfina similar a la de una única dosis oral de liberación controlada.³⁰

Sistemas conteniendo carbopol e hidroxipropilmetilcelulosa y como principio activo pentazocina, un analgésico opiáceo sintético con actividad agonista-antagonista, producen un aumento de 2-3 veces en el AUC cuando se administran a conejos, comparándolos con una administración oral.³¹

Ishida y col.³² han desarrollado una forma mucosal adhesiva que está constituida por un núcleo que contiene el fármaco, insulina, manteca de cacao y excipientes, y está rodeado por una mezcla de hidroxipropilcelulosa y carbopol 934.

Se han desarrollado sistemas de liberación controlada constituidos por un comprimido bioadhesivo de liberación local en la cavidad oral de cloruro de cetilpiridinium³³, ampliamente utilizado como desinfectante y agente antiplaca. De esta manera se mejora la eficacia con respecto a otras formas convencionales, como pastillas, enjuagues bucales, geles y pastas orales, cuyos problemas están relacionados con el flujo salival y la ingestión de las formas farmacéuticas que disminuyen su acción local.

Geles mucoadhesivos para la mucosa sublingual o gingival, se han diseñado para incrementar el tiempo de permanencia en la mucosa oral y mejorar la absorción, consiguiéndose un cierto grado de liberación sostenida del fármaco. Ejemplo: gel de polimetilmetacrilato con 0,1% de tretinoína para mejorar el liquen plano.

En todos los casos se deben realizar los test adecuados porque estos sistemas pueden llegar a provocar irritaciones en el sitio de adhesión bucal, tales como ulceraciones de la mucosa, este es el caso de algunos carbomers y de excipientes como el dodecil sulfato de sodio que es irritante.¹⁸

Administración oral. Las formas mucoadhesivas de administración oral tienen como finalidad fijarse a la mucosa estomacal o intestinal y suministrar de forma continua dosis de fármaco para que sea absorbido en el intestino durante períodos prolongados de tiempo. El desarrollo de comprimidos bioadhesivos está asociado a numerosos problemas, como por ejemplo, la motilidad gástrica que puede dificultar la adhesión u originar un desprendimiento del sistema; el pH estomacal (1,5-3) que no resulta el más conveniente para la bioadhesión, excepto cuando se usan polímeros poliácidos como el ácido poliacrílico reticulado, cuyo mecanismo predominante de bioadhesión tiene lugar mediante la formación de puentes de hidrógeno; otra dificultad es la renovación de la capa de mucina en el estómago que provoca el desprendimiento del mucoadhesivo que queda inhabilitado para una posterior fijación y por último la zona de adhesión, que no es directamente accesible para conseguir, mediante presión, una primera adhesión.

Estos inconvenientes van siendo minimizados con el uso de uno ó la combinación de varios polímeros que establecen adhesiones suficientemente potentes. También mediante la administración de formas multiparticulares que quedan retenidas en las vellosidades intestinales, desde donde ceden de forma controlada el fármaco. La retención física por las vellosidades no es suficiente, sino que debe ser adherida a través de la cubierta adhesiva que recubre a la micropartícula que incorpora la sustancia activa en un núcleo matricial de un polímero hidrófilo. Se dosifican en cápsulas de gelatina que las dejan en libertad en el intestino ó estómago según tengan recubrimiento entérico ó no.

Un estudio reciente ha sido realizado con griseofulvina³⁴, que es una droga con dificultades en su biodisponibilidad relacionadas con su escasa solubilidad acuosa y lenta velocidad de disolución, con lo cual exhibe una lenta, errática e incompleta absorción desde el tracto gastrointestinal. Estos problemas han sido abordados aumentando la velocidad de disolución por disminución del tamaño de partícula, mediante la micronización y ultramicronización, procesos costosos y que presentan el inconveniente de la agregación y aglomeración de las partículas resultando en una pobre humectación. Este problema ha sido minimizado con las dispersiones sólidas utilizando carriers solubles en agua, pero aún este método posee problemas relacionados con su estabilidad física. Por ello la asociación de la griseofulvina con polímeros bioadhesivos aparece como una solución para sus problemas de biodisponibilidad, porque se prolonga el tiempo de tránsito en la región gastrointestinal, aumentando la cantidad de droga absorbida. En este estudio se comparan los perfiles plasmáticos obtenidos a partir de cuatro formulaciones orales, una de ellas, cápsulas conteniendo solamente griseofulvina, otra donde la droga se mezcla con ácido poliacrílico entrecruzado con 2,5-dimetil-1,5-hexadieno (PADH) polímero con tamaño de partículas entre 400 y 630 μm , también en cápsulas, una suspensión acuosa de griseofulvina mezclada con acacia y por último una emulsión aceite en agua de griseofulvina, disuelta en la fase oleosa constituida por aceite de palma, conteniendo también acacia, con un tamaño medio de partículas de 4 μm .

En los perfiles plasmáticos se observa un ligero retardo en alcanzar el pico plasmático máximo de droga, cuando se administra con el adhesivo PADH, comparándola con las otras formulaciones, sin embargo la magnitud de este pico, la C_{max} de griseofulvina desde esta forma de administración bioadhesiva, aumenta entre 2-4 veces más respecto a las otras formulaciones y lo mismo ocurre con el $AUC_{(0-24)}$.

Este aumento de la absorción puede ser atribuido al hecho de que el polímero puede adherirse a la mucina que cubre la pared estomacal aumentando el tiempo de permanencia de la droga en la misma.

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos después de una administración oral de distintas formulaciones de griseofulvina (n=5)

FORMULACIONES	C _{máx} (µg/ml)	T _{máx} (h)	AUC (µg h/ml)
Cápsulas c/droga	0.317 ± 0.07	6.0 ± 0.57	3.294 ± 0.92
Cápsulas c/droga y PADH	0.881 ± 0.12	8.0 ± 0.57	9.454 ± 1.00
Suspensión acuosa	0.209 ± 0.01	6.0	2.383 ± 0.18
Emulsión O/W	0.479 ± 0.07	2.0	3.225 ± 0.49

Yuanfen Liu et al. desarrollan un producto a base de microesferas mucoadhesivas conteniendo psoraleno como droga modelo debido a las propiedades hidrofóbicas y al potencial efecto para el tratamiento gástrico de infecciones con *Helicobacter pylori*, demostrando tanto con estudios *in vitro* como *in vivo* la eficacia de la formulación.³⁵

En general las microesferas bioadhesivas ofrecen un sistema único portador de muchos fármacos y pueden personalizarse para adherirse a cualquier tejido mucoso, los que se encuentran en la cavidad oral, pero también en los ojos y a lo largo del tracto respiratorio, urinario y digestivo. Las microesferas bioadhesivas pueden utilizarse no sólo para liberación controlada, sino también para la entrega de las drogas a sitios específicos en el cuerpo. Recientes avances en la investigación farmacéutica han previsto el desarrollo de sistemas poliméricos de liberación de drogas como proteínas, péptidos (insulina, calcitonina y desmopresina), en terapia génica, en la administración de forma localizada y selectiva de agentes antitumorales y de vacunas contra la influenza.³⁶

Administración nasal. Esta vía alternativa de administración de fármacos posee excelentes características de absorción por la mucosa nasal, es de fácil acceso, con un área superficial aproximada de 150 cm², altamente vascularizada, con una estructura muy permeable para la absorción y además con la ventaja de que carece de efecto de primer paso.

Sin embargo la eficacia de la absorción nasal puede verse afectada por algunos factores, como el método y técnica de administración, el lugar de deposición y la rápida remoción de los fármacos desde la mucosa nasal por acción mucociliar.

Las óptimas características fisiológicas de esta vía han sido utilizadas para viabilizar fármacos peptídicos (insulina, calcitonina, hormona de crecimiento) y otros de indicación en enfermedades crónicas y en posibles situaciones de urgencia, como los antihipertensivos, así como también se está estudiando para administrar vacunas (contra pertusis, tétano, etc.)^{37,38} Los requisitos para el uso de esta vía son dosificaciones muy pequeñas y que la forma de administración no interfiera con el movimiento de los cilios de las células epiteliales. Por ello se usan polvos, micro y nanopartículas o bien líquidos acuosos de baja viscosidad, finamente dispersados (nebulizados).

La permanencia en la zona mucosa para la absorción se encuentra en vías de solución con el desarrollo de formas mucoadhesivas que permitan reducir la eliminación nasal, disminuir la dosis y los efectos colaterales, asegurando el cumplimiento terapéutico. Con tal fin se usan los polímeros hidroxipropilcelulosa, ácido poliacrílico, carbopol y PEG 400. Se han estudiado microesferas bioadhesivas.

Se ha demostrado que insulina administrada en microesferas intranasales en conejos disminuyó la glucosa en sangre un 60% comparada con el 15% de un control conteniendo la misma cantidad de insulina en solución³⁹.

Administración vaginal. Los sistemas vaginales poseen ventajas sobre otras vías para aquellos fármacos que son sensibles al metabolismo intestinal ó hepático, o bien causan efectos colaterales en el tracto gastrointestinal. No obstante la biodisponibilidad y la acción local de los fármacos allí administrados no es muy alta, por ello con las formas bioadhesivas se ha buscado incrementar su efectividad. Se aplican tanto para acción tópica como sistémica. Se han realizado estudios con comprimidos matriciales, discos y micropartículas, estas últimas con distribución homogénea en la vagina.

Los excipientes más usados son hidroxipropilmetilcelulosa, ácido piliacrílico y carbopol y entre los principios activos así vehiculizados se puede mencionar al clorhidrato de bleomicina para el Carcinoma colli, prostagladina F₂ y metronidazol.

Se ha desarrollado una forma de dosificación bioadhesiva por vía vaginal, como dispositivo intrauterino, para la administración de derivados imidazólicos, del tipo del clotrimazol, ampliamente usado para infecciones micóticas del tracto genitourinario⁴⁰ De esta manera se ve mejorada su biodisponibilidad respecto a sistemas de administración convencionales, del tipo cremas, tabletas, geles, irrigaciones, etc. todas ellas de limitado tiempo de residencia en el tracto vaginal. Por otra parte al requerirse múltiples dosis diarias aumentaban los efectos adversos y ofrecían poca complacencia por parte de las pacientes, con este nuevo sistema el dispositivo puede permanecer en el tracto vaginal varios días sin producir efectos tóxicos ni modificaciones fisiológicas importantes. Los polímeros bioadhesivos utilizados son hidroxipropilcelulosa, policarbofil y la sal sódica del ácido hialurónico.

Recientemente, Hani et al. diseñaron y evaluaron un nuevo sistema de liberación para el tratamiento local de candidiasis vaginal. Consistió en un film bioadhesivo, conteniendo metronidazol y utilizando polímeros tales como quitosan y combinaciones de hidroxipropilcelulosa y carboximetilcelulosa sódica en diferentes concentraciones. El sistema presentó aceptables propiedades estéticas, físicas y mecánicas. El sistema prolongó la liberación de la droga por 10 horas, lo cual redujo la frecuencia de su administración.⁴¹

Administración ocular. La aplicación tópica de soluciones medicamentosas convencionales en el ojo lleva implícita una pérdida sustancial de dosis por vertido desde el ojo o por drenaje lacrimal. En la práctica, solo pequeñas cantidades (1-3%) penetran la córnea y alcanzan tejidos intraoculares. Por ello se han estudiado sistemas que eviten o disminuyan esta pérdida, en el campo de las formulaciones clásicas: soluciones viscosas, suspensiones, pomadas, geles y más recientemente microsferas, liposomas, nanopartículas, sistemas de gelificación *in situ* y sistemas mucoadhesivos. Todos ellos para prolongar el tiempo de residencia en el área de liberación, acción tópica o bien absorción ocular.

Entre los fármacos formulados en sistemas mucoadhesivos podemos mencionar, entre otros, a la pilocarpina, fluoresceína, timolol, bataxolol, gentamicina y acyclovir.⁴²⁻⁴⁴

Hidrogel mucoadhesivos que llevan el fármaco en solución ó suspensión han puesto de manifiesto una lenta liberación del fármaco y una retención prolongada del vehículo en el saco conjuntival, por fenómenos de mucoadhesión.⁴⁵

Administración rectal. Un estudio realizado administrando clorhidrato de propranolol, como supositorios líquidos mucoadhesivos, los cuales son líquidos a temperatura ambiente pero gelifican a la temperatura corporal y que constituyen una alternativa frente a los tradicionales supositorios para administrar drogas tales como indometacina, paracetamol, etc., ha demostrado un aumento marcado en la biodisponibilidad de la droga frente a administraciones orales⁴⁶. Recordemos que esta droga sufre un efecto del primer paso muy importante, con una biodisponibilidad sistémica de alrededor del 15-23% cuando se administra por vía oral. Los polímeros bioadhesivos usados en este estudio fueron hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona, carbopol, policarbofil y alginato de sodio. Se compararon diversos parámetros farmacocinéticos obtenidos con supositorios elaborados con estos bioadhesivos, con los obtenidos luego de una administración intravenosa y una solución oral, conteniendo la misma concentración de propranolol. La administración de los supositorios bioadhesivos aumentó la biodisponibilidad oral de 13.4% hasta 85%, dependiendo del

polímero utilizado y aumentó también la biodisponibilidad respecto a un supositorio control, sin bioadhesivo, desde un 62% a un 85%.

CONCLUSIONES

Los estudios sobre los sistemas mucoadhesivos se han centrado en una amplia gama de aspectos. Constituye un área en crecimiento cuyo objetivo principal es el desarrollo de nuevos polímeros y nuevos dispositivos de liberación de fármacos más “inteligentes”, así como la formulación de nuevas teorías que puedan elucidar mejor el fenómeno de la mucoadhesión.

Por otra parte estas formas farmacéuticas ofrecen prolongar el contacto en el sitio de administración, aumentando la absorción del fármaco, con baja actividad enzimática y mayor complacencia por parte de los pacientes. Por supuesto que estas ventajas dependerán de una óptima selección del polímero más adecuado, con excelentes propiedades adhesivas y sobre todo propiedades de biocompatibilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vila Jato J.L. (1997) Tecnología Farmacéutica. Vol. II Formas Farmacéuticas. Ed. Síntesis, Madrid, pp. 379
2. Chien Y.W. (1992) Novel drug delivery systems. 2a. Ed. Marcel Dekker Inc. NY, pp. 139
3. Rodríguez I.C., Cerezo A. and Salem I.I. (2000) Sistemas de liberación bioadhesivos. *Ars. Pharmaceutica* 41(1): 115-128
4. Peppas N.A. and Buri P.A. (1985) Surface, interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues. *J. Controlled Rel.* 2:257-275
5. Woodley J. (2001) Bioadhesion, new possibilities for drug administration? *Clin. Pharmacokinet.* 40 (2): 77-84
6. Andrews G.P. Laverty T.P. and Jones D.S. (2008) Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 71 (3): 505-518
7. Ahuja A., Khar R.K. and Ali J. (1997) Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 23 (5): 489-515
8. Smart J.D. (2005) The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv. Drug Del. Rev.* 57 (11): 1556-1568
9. Park K. and Robinson J.R. (1984) Bioadhesives as platforms for oral controlled drug delivery. *Int. J. Pharm.* 19:107-127
10. Park K. and Robinson J.R. (1985) Physico-chemical properties of water insoluble polymers important to mucin/epithelial adhesion. *J. Controlled Rel.* 2:47-57
11. Huang Y., Leobandung W., Foss A. and Peppas N.A. (2000) Molecular aspects of muco and bioadhesion: tethered structures and site-specific surfaces. *J. Controlled Rel.* 65:63-71
12. Carvalho F.Ch., Bruschi M.L., Evangelista R.C. and Gremiao M.P.D. (2010) Mucoadhesive drug delivery systems. *Braz. J. Pharm. Sci.* 46 (1): 1-17
13. Shaikh R., Singh T.R., Garland M.J., Woolfson D. and Donnelly R.F. (2011) Mucoadhesive drug delivery systems. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 3 (1): 89-100
14. Peppas N.A. and Sahlin J.J. (1996) Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review. *Biomaterials* 17(11): 1553-1561
15. Chowdary C.P.R. and Rao Y.S. (2004) Mucoadhesive microspheres for controlled drug delivery. *Biol. Pharm. Bull* 27 (11): 1717-1724
16. Grabovac V., Guggi D. and Bernkop-Schnürch A. (2005) Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers. *Adv. Drug Del. Rev.* 57 (11): 1713-1723
17. Lejoyeux F., Ponchel G. and Duchene D. (1989) Influence of some technological parameters on the bioadhesive characteristics of polyacrylic acid matrices. *S.T.P. Pharma.* 5 (12): 893-898
18. Lahoti S.S., Shep S.G., Mayee R.V. and Toshniwal S.S. (2011) Mucoadhesive drug Delivery System: a review. *Indo-Global J. Pharm. Sci.* 1(3): 243-251

19. Duchene D., Touchard F. and Peppas N.A. (1988) Pharmaceutical and medical aspects of bioadhesive systems for drug administration. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 14 (2,3): 383-318
20. Kalyankar T.M., Rangari N.T., Khan M. and Wagh V.D. (2010) Bioadhesive drug delivery systems: a review. *J. Pharm. Res.* 3 (7) : 1685-1689
21. Bruschi M.L. and Freitas O. (2005) Oral bioadhesive drug delivery systems. *Drug Ind. Pharm.* 31 (3): 293-310
22. Bruschi M.L., Jones D.S., Panzeri H., Gremiao M.P.D., Freitas O. and Lara E.H.G. (2008) Development and characterization of precursor of liquid crystalline phase with propolis-containing microparticles for use in the treatment of periodontal disease. *Drug Develop. Ind. Pharm.* 34 (3): 267-278
23. Bruschi M.L., Jones D.S., Panzeri H., Gremiao M.P.D., Freitas O. and Lara E.H.G. (2007) Semisolid systems containing propolis for the treatment of periodontal disease: in vitro release kinetics, syringeability, rheological, textural and mucoadhesive properties. *J. Pharm. Sci.* 96 (8): 2074-2089
24. Lee J.W., Park J.H. and Robinson J.R. (2000) Bioadhesive-based dosage forms: the next generation. *J. Pharm. Sci.* 89:850-866
25. Ali J., Khar R.K. and Ahuja A. (1998) Formulation and characterization of a buccoadhesive tablet for the treatment of oral lesions. *Pharmazie* 53:329-334
26. Merkle H.P., Anders R., Sanow J. and Schurr W. (1986) Drugs delivery of peptides: the buccal route. In Davis S.S. Illum L. and Tomlinson E. (eds) *Delivery systems for peptide drugs*. Vol. 125. Plenum, NY pp. 159.
27. Nagai T. and Mashida Y. (1985) Mucosal adhesive dosage forms. *Pharm. Int.* 6 (8) 196-200
28. Tsunaji Nagai (1987) Buccal/gingival drug delivery systems *J. Controlled Rel.* 6: 353-360
29. Llabot J.M., Manzo R.H. and Allemandi D.A. (2002) Double-layered mucoadhesive tablets containing nystatin. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 3(3): 47-52.
30. Beysacc E., Touaref F. and Meyer M. (1998) Bioavailability of morphine after administration of a new bioadhesive buccal tablet. *Biopharm. Drug Disp.* 19:401-405
31. Agarwal V. and Mishra B. (1999) Design, development and biopharmaceutical properties of buccoadhesive compacts of pentazocine. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25:701-709
32. Ishida Y., Machida N., Nambu and Nagai T. (1981) New mucosal dosage form of insulin *Chem. Pharm. Bull.* 29:810-816
33. Minghetti P., Pacchetti B., Montanari L. Ronchi C. and Berlati F. (1997) Buccoadhesive tablets for the slow delivery of cetylpyridinium chloride: design and in vitro/in vivo analysis. *Boll. Chim. Farm.* 136: 543-548
34. Khalid Mahrag Tur, Hung-Seng Ch. and Saringat Baie (1997) Use of bioadhesive polymer to improve the bioavailability of griseofulvin. *Int. J. Pharm.* 148: 63-71
35. Liu Y., Zhang J., Gao Y. and Zhu J. (2011) Preparation and evaluation of glyceryl monooleate-coated hollow-bioadhesive microspheres for gastroretentive drug delivery. *Int. J. Pharm.* 413: 103-109
36. Vasir J.K., Tambwekar K. and Garg S. (2003) Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system. *Int. J. Pharm.* 255: 13-32
37. Alpar H.O., Eyles J.E. and Williamson E.D. (1998) Oral and nasal immunization with microencapsulated clinically relevant proteins. *STP Pharma. Sci.* 8:31-39
38. Alonso H.O. (2000) Recent strategies for vaccine formulation in biodegradable polymer particles. *Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mater.* 27: Abstract 0218
39. Callens C., Remon J.P. (2000) Evaluation of starch-maltodextrin-Carbopol 974 P mixtures for the nasal delivery of insulin in rabbits. *J. Controlled Rel.* 66:215-220
40. Ceschel G.C., Maffei P., Lombardi Borgia S., Ronchi C. and Rossi S. (2001) Development of a mucoadhesive dosage form for vaginal administration. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 27(6): 541-547
41. Hani U., Bhat R.S. and Younus Pasha M. (2012) Formulation design and evaluation of bioadhesive vaginal films of metronidazole for vaginal candidiasis. *Lat. Am. J. Pharm.* 31 (1): 84-90
42. Gurtler F., Kaltsatos V., Boisrame B., Deleforge J., Gex-Fabry M., Balant L.P. and Gurny R. (1995) Ocular availability of gentamicin in small animals after topical administration of a conventional eye drop solution and novel long acting bioadhesive ophthalmic drug insert. *Pharmacol. Res.* 12:1791-1795
43. Zimmer A.K., Chetoni P., Saettone M.F., Zerbe H and Kreuter J. (1995) Evaluation of pilocarpine-loaded albu-

43. Zimmer A.K., Chetoni P., Saettone M.F., Zerbe H and Kreuter J. (1995) Evaluation of pilocarpine-loaded albumin particles as controlled drug delivery systems for the eye II: co-administration with bioadhesive and viscous polymers. *J. Controlled Rel.* 33:31-46
44. Genta I., Conti B. and Perugini P. (1997) Bioadhesive microspheres for ophthalmic administration of acyclovir. *J. Pharm. Pharmacol.* 48:737-742
45. Le Boursais C.A., Treupel-Acar L., Rhodes C.T., Sado P.A. and Leverage R. (1995) New ophthalmic drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 21 (1): 19-59
46. Jei-Man R., Suk-Jae Ch., Min-Hwa L., Chong-Kook K. and Chang-Koo S. (1999) Increased bioavailability of propranolol in rats by retaining thermally gelling liquid suppositories in the rectum. *J. Control. Release* 59:163-172

FOTOPROTECCIÓN – LINEAMIENTOS TÉCNICOS: PRESENTE Y FUTURO PHOTOPROTECTION – TECHNICAL RULES: PRESENT AND FUTURE

Pablo, A, M Quiroga ⁽¹⁾, Marta, M, Salseduc (*) ⁽²⁾

(1): Departamento de Investigaciones Farmacológicas - Laboratorios Bagó S.A. / Cátedra de Toxicología Farmacéutica - Facultad de Ciencias Exactas - Universidad Nacional de La Plata.

(2): Miembro - Comité Investigación y Desarrollo- Laboratorios Bagó S.A.

e-mail: quirogapablo@yahoo.com.ar

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen – Summary	72
Introducción.	73
Evaluación de la Protección UVB- Factor de Protección Solar (FPS) in vivo e in vitro y Resistencia al agua.	73
Evaluación de la Protección UVA- Factor de Protección UVA- FPUVA- Determinación de la longitud de onda crítica.	76
Importancia de la Fotoestabilidad en los protectores solares.	76
¿Es necesaria la Protección al Infrarojo IRA?	80
Conclusiones	81
Referencias Bibliográficas	81

RESUMEN

El objetivo de esta revisión es realizar una actualización de los diferentes lineamientos y propuestas regulatorias, Regionales e Internacionales, respecto de los estudios que deben llevarse a cabo para evaluar la eficacia de los protectores solares y cuales son las perspectivas a futuro en este tema. Es nuestra intención que esta revisión represente una guía rápida para la actualización en los lineamientos técnicos en fotoprotección, la cual con el tiempo adquiere mayor relevancia para la población. La investigación constante en este tema redundará en un beneficio para los usuarios, los cuales podrán contar con protectores solares cada vez más seguros y eficaces.

Palabras claves: FPS (**Factor de Protección Solar**), FPUVA (**Factor de Protección UVA In Vitro**), Protector solar.

SUMMARY:

The purpose of this revision is to carry out an update of the different regional and international guidelines and regulatory approaches regarding the studies which should be performed to evaluate the efficiency of sunscreens and of future perspectives to be covered. Our intention is to represent a quick updated guideline towards UV protection which has gained mayor concern in the population over the years. Continuous research in this matter will benefit to the consumer, counting on more reliable and safer sunscreen products.

Key Words: SPF (**Sun Protection Factor**), FPUVA (**In Vitro UVA Protection Factor**), sunscreens

INTRODUCCIÓN

Los efectos sobre la salud humana de la exposición a la radiación Ultravioleta (UV) que incluye la Radiación Ultravioleta B (UVB) y la Radiación Ultravioleta A (UVA) están bien documentados y los mismos incluyen: fotoenvejecimiento ⁽¹⁾, inmunosupresión ⁽²⁾ y cáncer (carcinoma celular escamoso / basal y melanoma maligno) ⁽³⁾. Si bien la piel humana presenta una inherente protección, a través del ácido urocánico a la radiación UV y otros mecanismos de defensa, estos no son infalibles y su efectividad varía entre los distintos tipos de piel ⁽⁴⁾.

La preocupación sobre los efectos perjudiciales de la luz solar en la piel ha generado una demanda significativa en el desarrollo de nuevas formulaciones que mejoren la fotoprotección, tanto en el rango espectral UVB como UVA ⁽⁵⁾ e Infrarrojo (IRA) de los productos de aplicación tópica.

El primer reporte de la utilización de protectores solares (sunscreens) en el mundo, fue en el año 1928 en los Estados Unidos, con la introducción de una emulsión comercial que contenía dos filtros solares: salicilato de bencilo y cinamato de bencilo ⁽⁶⁾.

En el año 1943 fue patentado el ácido p-aminobenzoico (PABA); esto condujo a la incorporación de numerosos derivados del PABA en las formulaciones de los protectores solares ⁽⁷⁾.

Los mismos son regulados como drogas, en países como USA, Australia, Canadá y Nueva Zelanda y como cosméticos, en la Unión Europea, Japón, y Sudamérica entre otros ⁽⁸⁾.

Los protectores solares de aplicación tópica proveen un medio de protección a la radiación solar y la misma está en función de la efectividad en la absorción de la luz y la excitación electrónica de las moléculas componentes del protector solar.

El ingrediente principal de los protectores solares son los filtros activos ultravioletas, sin embargo otros factores como el vehículo de los filtros UV y la optimización de los sunscreens, en términos de otros atributos tales como, la resistencia al agua y fotoestabilidad, también afectan la eficacia y performance de los productos ⁽⁹⁾.

Antes del año 1990 los protectores solares incorporaban en sus formulaciones filtros activos UV limitados principalmente a la longitud de onda correspondiente al UVB con una pequeña efectividad en la longitud de onda correspondiente al UVA ^(10,4). Sin embargo en la década del 90, nuevos filtros UV estuvieron disponibles. Estos presentaban un coeficiente de extinción molar alto, a menudo combinado con un pico de absorción en la región UVA ⁽¹¹⁾, esto último sumado al desarrollo de métodos rápidos *in vitro* para valorar la protección a la radiación UVB y UVA de los protectores solares ⁽¹²⁾, les permitió a los investigadores desarrollar una nueva generación de protectores solares mucho más efectivos.

EVALUACIÓN DE LA PROTECCIÓN UVB- FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR (FPS) Y RESISTENCIA AL AGUA.

El grado de protección que confieren los protectores solares ha sido definido por la eficacia en la prevención del eritema inducido por la radiación UV, determinada directamente por un procedimiento estandarizado *in vivo* para el Factor de Protección Solar (FPS). El rango de longitudes de onda del espectro de radiación UV que induce eritema es bien conocido y está principalmente confinado a las longitudes de onda comprendidas entre 290 y 330 nm, este espectro de acción se corresponde con el propuesto para el daño al ADN y la inducción de tumores de piel, no melanoma en ratones y por extensión al ser humano ⁽¹³⁾.

El FPS, provee una medición *in vivo* clínicamente relevante de la eficacia de un protector solar. ⁽¹³⁾ Es conside-

rado un indicador universal de los protectores solares frente a la quemadura solar, pero no es necesariamente un indicador total y suficiente del grado de protección que el protector solar provee frente a la exposición a la radiación UVA ⁽¹⁴⁾

En la actualidad desde el punto vista regulatorio hay diferentes métodos *in vivo* propuestos para evaluar el FPS de los protectores solares:

a) *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method*, resultado de la armonización entre *European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association (COLIPA)*, *The Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association (CTFA)*, *Japan Cosmetic Industry Association (JCLA)* y *The Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association of South Africa (CTFA-SA)*.

b) *Final Rule FDA* publicado recientemente, *21 CFR Parts 201 and 310 "Labelling and Effectiveness Testing: Sunscreens Drug Products For the Over-the-Counter Human Use- Final Rule-2011*.

Por otra parte el *Reglamento Técnico Mercosur Sobre Protectores Solares en Cosméticos - Mercosur / XXXIV SGT N° 11/P. Res. N° 01/10* especifica que la determinación del FPS debe ser realizada siguiendo únicamente métodos *in vivo*, aplicando una de las metodologías enunciadas anteriormente o sus actualizaciones.

La primera edición de la *ISO 24444* ha sido publicada con fecha *15/11/2010*, *Cosmetics – Sun Protection Test Methods- In Vivo determination of the Sun Protection Factor (SPF)*, la cual se basa principalmente en los lineamientos del *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method*.

• Las nuevas reglamentaciones de FDA incluyen modificaciones en algunos puntos de la metodología utilizada para la evaluación del FPS, algunos de ellos, en la dirección de los lineamientos descritos en el *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method*.

A continuación detallamos los principales parámetros de cada reglamentación:

Parámetros	FDA, 21 CFR Parts 201 y 310 (2011)	--Método de Prueba Internacional para el Factor de Protección solar FPS -- --ISO 24444 (**) ...International Sun Protection factor Test Method (SPF) ---ISO 24444
Formulaciones de Referencia	<p><u>Única Formulación de referencia:</u> PadimateO: 7.0% y oxybenzone 3.0% para todos los valores de FPS, considera que la formulación de referencia constituye un método de control y <u>no</u> una herramienta de calibración. <u>Se elimina la formulación de Homosalato.</u></p>	<p><u>Formulaciones de Referencia:</u> 1- High SPF Reference Formula – P2 Octyl Dimethyl PABA⁵:7.0%; Benzophenone-3 (“Oxibenzone”): 3.0% 2- High SPF Reference Formula – P3 Ethyl Hexyl Methoxycinnamate: 3.0% Butyl Methoxydibenzoylmethane: 0.5% 2-Phenyl-Benzimidazole-5-sulphonicAcid: 2.78% 3- Low SPF Reference Formula – P7 Homosalato 8%</p>
Número de Sujetos	<p>10-13 se requieren ≥ 10 resultados validos para todos los FPS a) <u>Exclusión</u> para el cálculo del FPS medio: un máximo de 3 sujetos a) Los datos analizados demuestran que con este número de resultados el Test para FPS puede ser realizado con adecuada precisión y exactitud, <u>independientemente del valor del FPS.</u> 1- No incluye un requerimiento estadístico que permita que se adicionen sujetos individuales al panel de prueba.</p>	<p>a) Mínimo: 10 Máximo: 20 <u>RESULTADOS VALIDOS.</u> Permite que un máximo de 5 resultados puedan ser excluidos del cálculo para el FPS medio. • 10 resultados son validos si el Intervalo de confianza del 95 % para el FPS medio, esta dentro del rango FPS medio ± 17 %, • si esto no se cumple: el número de sujetos es incrementado en forma escalonada desde 10, hasta que el criterio estadístico sea alcanzado (hasta un máximo de 20 resultados válidos con un máximo de 25 sujetos probados) si el criterio estadístico no ha sido alcanzado después de los 20 resultados válidos de un máximo de los 25 sujetos, <u>la prueba debe ser rechazada</u></p>
Progresión de Dosis	<p>✓ Sitios no protegidos: Mínima dosis eritemal en piel no protegida (Minimal Erythemat Dose on unprotected skin) <u>MEDu</u> <u>progresión geométrica 1.25</u></p> <hr/> <p>✓ Sitios protegidos con producto: Mínima Dosis Eritemal en piel protegida (Minimal Erythemat Dose on protected skin) <u>MEDp</u> FPS < 8.0: <u>progresión geométrica de 1.25</u> FPS : 8 a 15: <u>progresión geométrica de 1.20</u> FPS >15: <u>progresión geométrica 1.15</u></p>	<p>✓ Sitios no protegidos: Mínima Dosis Eritemal en piel no protegida (Minimal Erythemat Dose on unprotected skin) <u>MEDu</u> <u>Progresión geométrica 1.12 o 1.25 (1)</u> <u>Progresión geométrica ISO 24444: 1.25 o menor (1.20; 1.15; 1.12) (1)</u></p> <hr/> <p>✓ Sitios protegidos con producto: Mínima Dosis Eritemal en piel protegida (Minimal Erythemat Dose on protected skin) <u>MEDp</u> <u>Progresión geométrica 1.12 o 1.25 (1)</u> FPS >25: <u>se recomienda una progresión geométrica 1.12</u> <u>Progresión geométrica: 1.25 o menor (1.20; 1.15; 1.12) (1)</u> FPS>25: <u>progresión geométrica máxima 1.15</u></p>
Sitio de Prueba	<p><u>Sitio de prueba:</u> <u>Área ≥ 30 cm²</u> <u>Subsitios:</u> a) <u>área ≥ 0.5 cm².</u> 1- <u>mínimo 5 subsitios.</u> a) <u>Distancia ≥ 0.8 cm</u></p>	<p><u>Sitio de prueba:</u> <u>Área mínima: 30 cm² ---- Área máxima: 60 cm²</u> <u>Subsitios:</u> 1. <u>área mínima: 0.5 cm² (1) (1)</u> 2. <u>área recomendada: 1 cm² (1)</u> a) <u>mínimo: 5 subsitios.</u> 1- <u>distancia mínima: 0.8 cm</u></p>
Aplicación	<p>✓ Cantidad de producto: <u>2 mg / cm²</u> • <u>Dedal de latex (finger cot): obligatorio sin saturación previa</u></p>	<p>✓ Cantidad de Producto: <u>2.00 mg / cm² \pm 2.5% (1)</u> ✓ Cantidad de Producto: <u>(2.00 \pm 0.05) mg / cm² (1)</u> ✓ <u>(Dedal de latex (finger cot): no obligatorio (1)</u> <u>indica si es necesario --- no indica saturación previa</u> ✓ <u>Dedal de latex (finger cot): no obligatorio/recomendado (1)</u> <u>no indica saturación previa</u></p>
Tiempo (entre aplicación y exposición UV)	<u>Al menos 15 minutos</u>	<u>15-30 minutos</u>
Evaluación horas	<u>16-24 hs</u>	<u>16-24 hs</u>

Debemos resaltar, que las nuevas especificaciones de FDA para el simulador solar, son consistentes con el *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method*, excepto para las siguientes especificaciones: límite de irradiación total, rango de irradiación total y uniformidad del haz.

La nueva propuesta de FDA para el Método utilizado en la determinación del FPS, tiene el objetivo de ser lo más consistente posible con el *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method*, esta ha sido la dirección de los cambios realizados sobre la *Sunscreen Final Rule 1999 (64 FR 27666)* y la el 21 CFR Parts 347 and 352: *Sunscreen Drug Products for Over-the - counter Human Use; Proposed Amendment of Final Monograph; Proposed Rule- 2007*.

Si bien algunos parámetros en esta nueva revisión difieren de los parámetros comparables del método de COLIPA y la ISO 24444, FDA considera que la armonización de los métodos es de suma importancia y es por ello que participa activamente en los grupos de trabajo de la *Organization for Standardization (ISO)* en el desarrollo de un método para valorar la eficacia de los protectores solares mediante la determinación del FPS.

TEST IN VITRO PARA FPS

Diversos métodos relacionados con la determinación del FPS *in vitro* han sido propuestos; “entre otros” el método desarrollado por Pisavini and Ferrero⁽¹⁵⁾ quienes proponen en su trabajo que el incremento del nivel de protección, el cual concuerda con el incremento de los estándares de seguridad requeridos por el consumidor, conduce a la formulación de protectores solares con valores de FPS cada vez más altos, frecuentemente mayores de 30, los cuales son muy dificultosos de medir. A mayor valor de FPS, mayor grado de incertidumbre se asocia al valor final del FPS determinado aplicando un test *in vivo*. En este trabajo se propone al test *in vitro*, como un complemento eficaz del test *in vivo* el cual permite realizar un screening entre dos formulaciones durante su desarrollo. El test *in vitro* propuesto esta basado en la determinación óptica y física de la reducción de energía en el rango UV a través de un film de producto el cual ha sido previamente distribuido homogéneamente sobre un sustrato adecuado.

Respecto de los métodos *in vitro* propuestos para la determinación del FPS, la FDA en su *Final Rule 2011*, considera que si bien los Tests *in vitro* tienen ventajas sobre los Tests *in vivo*, (rápida performance, menor costo y la no exposición de sujetos a la radiación UV), estos no podrían reemplazar al Test *in vivo*. Esta conclusión del FDA esta basada en que los datos presentados hasta el momento no pudieron demostrar que los sustratos utilizados (cuarzo o piel artificial entre otros) puedan simular las características fisiológicas de la piel humana y consideran que cuando los datos de validación demuestren que el Test *in vitro* sea equivalente al Test *in vivo*, incorporarán el mismo a las regulaciones. Es por esta razón que en este review no incorporamos los Test *in vitro*. La *International Standard ISO 24445*, que trata este tema se encuentra a la espera de su revisión y discusión.

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA AL AGUA:

Respecto de la evaluación de la resistencia al agua, el reglamento Técnico Mercosur Sobre *Protectores Solares en Cosméticos- Mercosur / XXXIV SGT N° 11/P. Res. N° 01/10* especifica que: “La determinación de la resistencia al agua debe ser realizada aplicando estrictamente una de las siguientes referencias o sus actualizaciones”:

A - Para aquellos productos cuyo FPS ha sido testeado aplicando la metodología FDA, la resistencia al agua debe ser realizada utilizando los lineamientos de FDA consignados en: **Department of Health and Human Services, Sunscreen drug products for over the-counter human use. Final Monograph: Proposed Rule, 21 CFR Part 352 et. al 1999** o sus actualizaciones. La última actualización y modificación ha sido muy reciente y corresponde a: *Department of Health and Human Services- Food and Drug Administration- 21 CFR Parts 201-310- Labelling and effectiveness Testing: Sunscreen Drug Products for Over-The Counter Human Use*. La modificación introducida respecto de los requerimientos anteriores, es la reducción del período de secado llevándolo de 20 a 15 minutos entre períodos de inmersión sucesivos; esta modificación se basa en la demostración que la reducción en el tiempo de secado no produce cambios

en las propiedades del protector solar cuando es sometido a múltiples ciclos de inmersión y secado. Es importante destacar que en las reglamentaciones finales de FDA – 2011 se conservan los términos: “resistente al agua” y “muy resistente al agua” cuando se cumplen las condiciones detalladas a continuación:

--- si el valor del FPS se mantiene “sin cambios” luego de dos períodos de inmersión de 20 minutos, un protector solar es considerado “resistente al agua” o “muy resistente al agua” si ofrece la misma protección posterior a 4 períodos de 20 minutos de inmersión cada uno. Cada intervalo de 20 minutos de inmersión es seguido por un período de secado de 15 minutos, hasta que se alcance el tiempo total de exposición al agua. Posteriormente se procede a evaluar el FPS post-inmersión de acuerdo a los lineamientos de la Guía de FDA 2011 antes mencionada.

B - Para los protectores solares cuyo FPS se ha determinado aplicando el *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method*, la resistencia al agua debe llevarse a cabo aplicando los lineamientos de COLIPA “*Guidelines For Evaluating Sun Product Water Resistance – December 2005*”, en la cual se compara el valor del FPS del producto en estudio luego de un período de inmersión en agua con el FPS estático original, determinado de acuerdo al *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method*.

Para esta guía un protector solar es considerado resistente al agua o muy resistente al agua, si el menor valor del Intervalo de confianza unilateral del 90 % es mayor o igual que el 50% del valor del FPS estático, luego de 2 o 4 intervalos de 20 minutos de inmersión respectivamente seguidos por un período de secado de 15 minutos. Además debe cumplirse que el Intervalo de confianza del 95% del valor del FPS estático medio, caiga dentro del $\pm 17\%$ del FPS estático medio.

EVALUACIÓN DE LA PROTECCIÓN UVA- FACTOR DE PROTECCIÓN UVA- (FPUVA)- DETERMINACIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA CRÍTICA.

En los últimos años se han establecido más exhaustivamente, los efectos nocivos de la radiación solar UVA. Así surgió la necesidad de contar no solo con protectores solares eficaces contra los rayos UVA, si no también con un método común de evaluación para medir el nivel o grado de protección a dicha radiación.

La combinación del valor del FPS *in vivo* y la longitud de onda crítica, provee una descripción completa de las características de fotoprotección de un producto, mientras el FPS describe la amplitud de la protección, la longitud de onda crítica provee una medida confiable del alcance de la capacidad de absorción espectral ⁽¹³⁾.

Johnson, Barth, Akin y Groves y colaboradores ^(16,17,18) reportaron que el efecto de protección a la radiación UVA de los protectores solares, podía ser determinado induciendo hipersensibilidad en animales de laboratorio, por medio de la administración de agentes fotosensibilizantes, entre ellos antraceno. Este fue el fundamento del método utilizado (Quiroga, P y Salseduc, M. - *comunicación personal*), para la evaluación de la protección a la radiación UVA de formulaciones conteniendo diferentes concentraciones de filtros solares. El grado de protección se cuantificó mediante el cálculo de un índice de protección UVA, denominado Factor de Protección Fototóxico ⁽¹⁹⁾.

En su recomendación del 22 de septiembre de 2006, “*On The Efficacy of Sunscreens Products and the Claims Made Relating Thereto*” (2006/647/EC), la Comisión Europea incluyó requisitos para el grado protección UVA y la longitud de onda crítica, los cuales se detallan a continuación:

- a) El valor de FPUVA deberá representar al menos 1/3 del valor del FPS, determinado según el método PPD (*Persistent Pigment Darkening*) *in vivo* o un grado de protección equivalente obtenido por cualquier método *in vitro*.
- b) El valor de longitud onda crítica *in vitro* deberá ser mayor o igual a 370 nm.

El cumplimiento de estos requisitos permitirán satisfacer exigencias para el grado de protección UVB / UVA,

de amplio espectro y el etiquetado asociado.

Por otra, parte en el reglamento *Técnico Mercosur Sobre Protectores Solares en Cosméticos - Mercosur / XXXIV SGT N° 11/P. Res. N° 01/10*, punto 4 correspondiente a metodologías, se indica que: “la determinación del nivel de protección UVA (FPUVA) debe ser realizada conforme a una de las siguiente metodologías, o sus actualizaciones”:

A. Método *in vivo*: *European Commission- Standardization Mandate Assigned to CEN Concerning Methods for Testing Efficacy of Sunscreen Products- Anex 2- Determination of the UVA Protection factor based on the principles recommended by the Japanese Cosmetic Industry Association (PPD method published 15.11.1995).*

B. Método *in vitro*: *COLIPA Guideline. Method for the in vitro determination of UVA protection provided by sunscreen products, 2007.*

La resolución Mercosur además especifica que el rango de protección UV debe ser evaluado mediante la determinación de la longitud de onda crítica, conforme a la metodología descrita por Diffey et. al. 2000 ⁽¹³⁾ o, alternativamente, a partir del espectro de absorción final obtenido aplicando el Método COLIPA antes mencionado. La longitud de onda crítica mínima deberá corresponder al menos a 370 nm.

Debemos destacar que la FDA en su actualización, “*Department of Health and Human Services- Food and Drug Administration- 21 CFR Parts 201-310- Labelling and effectiveness Testing: Sunscreen Drug Products for Over-The Counter Human Use-2011*”, considera que el método PPD aceptado por la JCIA desde 1996, es casi idéntico al Test para el FPS. Si bien el mismo es reconocido como el método estándar para la valoración *in vivo* de la protección al UVA tanto por JCIA como por la European Commission, las principales diferencias del PPD respecto del test para el FPS son:

1. La fuente de luz, ya que la misma emite solo en la zona espectral correspondiente al UVA (320-400 nm)
- 2.El punto final es el oscurecimiento de la piel (bronceado) en lugar del enrojecimiento de la piel (eritema).

En función de lo expuesto anteriormente, FDA concluye que no es necesario realizar el método basado en el PPD para establecer que un protector solar provee protección contra la radiación UVA. La magnitud de la absorción al UV a lo largo de la porción del espectro solar terrestre (UVB y UVA) puede ser valorada efectivamente basada en el Test para el FPS en combinación con el “cumple”/ “no cumple” del test *in vitro* para amplio espectro. Por lo tanto para aquellos protectores solares que cumplen el Test *in vitro* de amplio espectro, realizar el Test para el FPS y el Test del PPD sería redundante, ya que ambos son indicadores de la magnitud de la absorbancia a la radiación UV. El punto final es indicativo de la cantidad de la radiación UV que es absorbida, por lo tanto FDA tiene razones para preferir o seleccionar el Test para el SPF en lugar del Test del PPD.

En resumen para aquellos protectores solares que cumplen con el Test *in vitro* de amplio espectro, el requerimiento de realizar el PPD u otro Test *in vivo* para evaluar la protección a UVA es eliminado en esta nueva propuesta regulatoria. Desde el punto de vista del etiquetado, FDA no requiere la utilización del *Star Rating* u otra descripción que indique el nivel de protección a la radiación UVA. Si bien el índice de protección UVA en el etiquetado no es una exigencia actual de las Agencias Regulatorias, consideramos que en el mismo debería evidenciarse el grado de protección a la radiación UVA, en virtud de los efectos nocivos que la misma provoca en la piel y aportaría mayores elementos a la hora de seleccionar el protector solar adecuado, esto debería ir acompañado con una correcta educación al usuario.

El test para amplio espectro *in vitro* propuesto en este documento de FDA, se basa en la determinación de la longitud de onda crítica e incluye la evaluación del UVA como parte del espectro, su metodología presenta coincidencias con los lineamientos de la Guía de COLIPA “*In Vitro Method for the Determination of the UVA Protection Factor*”

and “Critical wavelength” Values of Sunscreen Products” actualizada en el 2011.

Los lineamientos antes mencionados, son actualmente uno de los más utilizados en el mundo y proveen los detalles o recomendaciones para un método *in vitro* validado, para determinar el grado de protección de los protectores solares al UVA y de la longitud de onda crítica. Esta actualización respecto de la versión 2009, presenta modificaciones, no en el equipamiento pero si en el procedimiento para llevar a cabo el método; introduce una formulación de referencia para UVA, cambia la placas de PMMA (*Polymethylmethacrylate, Plexiglas TM*) de rugosidad 2 a 6 μm y la cantidad de producto a aplicar de 0.75 a 1.3 mg / cm^2 , dichas modificaciones están en la dirección del *Draft International Standard ISO / DIS 24443- “Determination of Sunscreen UVA Photoprotection in vitro” 2010*, (a la fecha ha sido publicada la ISO 24443 final, el 01/06/2012) el cual se basa principalmente en los lineamientos de la guía de COLIPA.

El procedimiento se basa en la determinación de la transmitancia UV de una fina capa de muestra de protector solar esparcido sobre una placa de rugosidad HD6 de PMMA, antes y después de haber sido expuesto a una dosis controlada de radiación UV, provista por una fuente definida de radiación UV. Debido a la actual falta de reproducibilidad interlaboratorios de mediciones UV absolutas *in vitro*, cada grupo de datos de transmitancia del protector solar en estudio es ajustado, convirtiendo primero a datos de absorbancia (antes y después de la exposición UV) y luego multiplicando por un coeficiente de corrección (**C**). Este coeficiente es determinado iterativamente a partir de los datos de absorbancia de la muestra no expuesta, para proveer un valor FPS calculado *in vitro* igual al FPS etiquetado *in vivo*.

La muestra del protector solar es expuesta a una dosis de radiación proporcional al factor de protección UVA inicial (FPUVA0), calculado a partir de los datos corregidos de absorbancia de una muestra no expuesta. Tanto el valor final de FPUVA *in vitro* como el de Longitud de Onda Crítica *in vitro* (λ_c), son calculados a partir de los datos de absorbancia de la muestra expuesta a la radiación UV.

Consideramos que este método es adecuado, reproducible y confiable.

Longitud de onda crítica: Durante el procedimiento que se aplica para la determinación del FPUVA se determina la longitud de onda crítica. El valor de Longitud de Onda Crítica (λ_c) de una muestra, se define como aquella longitud de onda para la cual el área bajo la curva del espectro de absorbancia para el producto irradiado desde 290nm a λ_c , representa el 90% de la integral del espectro de absorbancia desde 290nm a 400nm y se calcula de la siguiente manera para cada placa individual irradiada:

$$\int_{290}^{\lambda_c} A_{\lambda} d\lambda = 0.9 \int_{290}^{400} A_{\lambda} d\lambda$$

El valor final de Longitud de Onda Crítica para cada muestra corresponde al promedio de los valores registrados para cada placa PMMA medida, tratada e irradiada, y el mismo debe ser mayor o igual de 370 nm.

IMPORTANCIA DE LA FOTOESTABILIDAD EN LOS PROTECTORES SOLARES:

La protección contra la exposición a la radiación UV y la reducción en los efectos fotosensibilizantes, requiere que las formulaciones de los protectores solares sean fotoestables. Debido a su capacidad de absorber la luz UV, los filtros químicos UV tienen el potencial de degradarse en presencia de la misma. En la fotoestabilidad de un protector solar no solo influye la combinación de los filtros sino también la selección de todos los componentes de la formulación.⁽²⁰⁾

Diversos estudios, han demostrado que algunos protectores solares pierden parte de su capacidad de protección cuando son expuestos a la radiación UV. Numerosos fabricantes de protectores solares declaran que sus productos

proveen un buen grado de protección contra la radiación UVB y UVA, sin embargo la fotoestabilidad del producto raramente es declarada ⁽²¹⁾.

Marrot, L. and col (2004). ⁽²²⁾ consideran que es un aspecto crítico asegurar que un protector solar retiene la fotoestabilidad sobre el espectro UV completo mientras que provee una protección eficiente a través del rango de radiación UV, el cual incluye tanto a la radiación UVB como UVA. ⁽²²⁾. Demuestran que la eficiencia de la fotoprotección es mejor cuando la formulación del protector solar posee un nivel suficiente de fotoestabilidad.

Para evaluar el impacto e importancia de la fotoestabilidad los autores utilizaron marcadores biológicos relacionados con efectos genotóxicos o de fotoenvejecimiento inducidos por la radiación UVA.

La fotoestabilidad apunta casi específicamente a la conservación del nivel de protección sobre los efectos de la exposición a la radiación UVA ⁽²²⁾, y el FPS solo está basado en la prevención del eritema, el cual mayoritariamente refleja la protección en el rango UVB del espectro solar. La radiación UVA es más penetrante y sus efectos son acumulativos. Además de tener un rol importante en el fotoenvejecimiento las mayores consecuencias están dadas por la producción de especies reactivas de oxígeno, las cuales pueden inducir cáncer de piel mediante la generación de derivados de bases de ADN oxidadas y alteración en los genes supresores de tumores como el p53 ⁽²³⁾. El valor del FPS no es suficiente para evaluar el nivel de protección frente a estos otros efectos biológicos sobre la piel. Si bien los protectores solares que no son fotoestables pueden o podrían mantener la protección en la zona UVB (290-320 nm), pero durante la exposición al sol podría haber una pérdida de la protección a la radiación UVA con los consiguientes efectos nocivos indicados anteriormente, los cuales son subclínicos, pero ocurren en la piel ⁽²²⁾. En función de lo dicho anteriormente y desde el punto de vista de la seguridad, los resultados indican que el grado de protección solar para el consumidor puede ser menos efectivo de lo que debería ser debido a una insuficiente fotoestabilidad del producto ⁽²²⁾.

En la actualidad no hay requerimientos regulatorios para la fotoestabilidad ⁽²⁰⁾ ni tampoco existe un método estandarizado para evaluar la misma ⁽²¹⁾ si bien se han descrito numerosos métodos para evaluar dicho parámetro ^(20,21,23,24,25,26,27), y algunos de ellos basados en la metodología propuesta por COLIPA para evaluar FPUVA y longitud de onda crítica. Por ello, es de suma importancia contar con un test armonizado globalmente para evaluar la fotoestabilidad debido a que los protectores solares deben mantener su eficacia durante el período completo de exposición solar ⁽²³⁾.

La FDA en su actualización *Department of Health and Human Services- Food and Drug Administration- 21 CFR Parts 201-310- Labelling and effectiveness Testing: Sunscreen Drug Products for Over-The Counter Human Use-2011*, especifica que no proponen una prueba para Fotoestabilidad como parte del procedimiento del test para el FPS, debido a que no han recibido datos que validen la performance de los tests de Fotoestabilidad existentes. Tampoco han recibido datos que demuestren que la efectividad de cualquier protector solar haya sido significativamente disminuida por la fotodegradación. Por lo tanto sostienen que el Test para el FPS propuesto, válida o tiene en cuenta la fotoestabilidad hasta cierto punto, porque durante estas pruebas para FPS, los protectores solares son expuestos a la radiación UV, antes que el valor del FPS sea determinado.

¿ES NECESARIA LA PROTECCIÓN AL INFRAROJO IRA?

El sol es la principal fuente de la Radiación Infrarrojo (IR) (760-4000 nm), la misma incluye un amplio rango de longitudes de onda y es subdividido en IRA (760-1440 nm), IRB (1440-3000 nm) e IRC (3000 nm – 1 mm), la mayoría de la radiación IR está conformada por IRA. La IRA penetra profundamente en la piel humana, aún mejor que la radiación UV. Aproximadamente un 50% de IRA llega a la dermis ^(28,29). La exposición a la radiación IRA, induce efectos biológicos similares que la radiación UV, pero los mecanismos subyacentes son sustancialmente diferentes ⁽²⁹⁾. A diferencia de la radiación UV la radiación IRA muestra una respuesta de señalización retrograda, la cual es iniciada en la mitocondria a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) originadas en la cadena

transportadora de electrones ^(29,30). Las consecuencias biológicas de la exposición a IRA, incluyen la generación de cáncer de piel, y fotoenvejecimiento prematuro de la misma ⁽³⁰⁾. IRA incrementa la expresión de la matriz de Metaloproteinasas (MMP)-1 (proteasa extracelular que tiene la capacidad de degradar proteolíticamente el colágeno de tipo 1 y 3 y las fibras elásticas) lo que tendría un rol clave en la patogénesis del fotoenvejecimiento de la piel humana ⁽²⁹⁾.

A partir de lo expuesto en este punto y del mecanismo mediante el cual IRA ejerce sus principales efectos biológicos descritos anteriormente, se desprende que una completa fotoprotección para la piel humana debería incluir protección contra IRA. Actualmente no están disponibles filtros químicos o físicos contra IRA, ni tampoco estudios controlados para evaluar la efectividad de los filtros UV frente a la radiación IRA ⁽³¹⁾. Un enfoque alternativo para lograr la fotoprotección frente a la radiación IRA, sería la utilización de antioxidantes que tengan como blanco la mitocondria ^(28,31).

CONCLUSIONES:

Hemos presentado distintos aspectos a tener en cuenta en la evaluación de un protector solar. Consideramos de suma importancia que las formulaciones de los protectores solares deben ser efectivas y seguras, si bien para la determinación del FPS hay diferentes métodos *in vivo* estandarizados, sería muy importante contar con un método armonizado, y ese es el camino que se está recorriendo. Si bien la ISO 24444 es resultado de la armonización, de acuerdo a lo que hemos detallado, se han realizado avances pero aún faltan puntos por armonizar. En referencia a los test *in vitro* para FPS, se han realizado importantes avances pero aún no son reconocidos regulatoriamente a nivel mundial. Respecto de la evaluación de la protección a la radiación UVA, actualmente la guía más utilizada es la de COLIPA la cual en el año 2011 ha realizado un sustancial avance al incorporar una formulación de referencia para la determinación del FPUVA e incluye la determinación de la longitud de onda crítica, de suma importancia, que permitirá evaluar fehacientemente si un protector es o no de amplio espectro. La armonización mundial sobre este tema habría finalizado y ya se encuentra disponible la Primera Edición de la ISO 24443 publicada el 01/06/2012 bajo el Título: "*Determination of sunscreen UVA photoprotection in vitro*" que cuenta con los votos de al menos 75% de sus miembros. Debemos esperar la posición de los diferentes países respecto de este *International Standard* ya que su publicación es muy reciente (junio 2012). La fotoestabilidad, es un parámetro de suma importancia en una formulación, debido a que el mismo permitiría asegurar que el nivel de protección se mantiene durante todo el período de exposición a la luz solar. Si bien, en la actualidad, existen diversos métodos propuestos validados, consideramos que existe la necesidad de contar con un método armonizado, con el objetivo de aportar mayor confiabilidad a los resultados obtenidos y de un criterio para la clasificación como fotoestable o no.

En resumen, consideramos que un protector solar de amplio espectro, fotoestable hace al mismo más efectivo y seguro. Por otra parte creemos que en un futuro cercano, se deberían desarrollar filtros solares, ya sea químicos o físicos, que provean protección frente a la radiación IRA, lo cual deberá estar acompañado con el desarrollo de métodos confiables que permitan evaluar dicha función y posteriormente contar con formulaciones de protectores solares que incluyan protección a la radiación IRA, actualmente el enfoque propuesto es la utilización de antioxidantes especialmente dirigidos a las mitocondrias, lo cual es considerado como una fotoprotección secundaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Fisher, S.C., Datta, S.H. Talwar, Z.Q. Varani, S. Kang, S. And Voorhes. (1996). Molecular basis of sun-induced premature skin aging and retinoid antagonism. *J. Nature*. 379: 335-339.
2. Kripke, M.L. and Jeevan, A. (1993). Immunological effects of UVB radiation.. *Frontiers of Photobiology*. Elsevier. 537-539.
3. Urbach, F. (1993). Photocarcinogenesis: Past, present and future.. *Frontiers of Photobiology*. Elsevier. 403-413. 1993.

4. Cantrel, A., McGarvey D. J., Truscott T. G., Giacomoni P. U., (2001).Photochemical and photophysical properties of sunscreens. *Sun Protection in man.*: 495-519.
5. Edited by Nicholas J. Lowe, Nadim A., Shaath and Mdhu A. Pathak. 1997.Sunscreens- Development, Evaluation and Regulatory Aspects. Second Edition, Revised and Expanded. Pag. VII
6. Nadim A., Shaath. Evolution of Modern Sunscreen Chemicals.Edited by Nicholas J. Lowe, Nadim A., Shaath and Mdhu A. Pathak. 1997.Sunscreens- Development, Evaluation and Regulatory Aspects. Second Edition, Revised and Expanded. Pag. 3-33
7. Wallaby Pocketbooks, New York. (1979).Safer and more successful suntanning. *Consumers Guide*: 31-33.
8. Murphy Gillian, M. (2002). An update on photoprotection. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 18: 1-4.
9. Diffey, B. (2007). Advances in Sunscreens. *Photoprotection, US Dermatology Review*: 46-48.
10. Nicholas J. Lowe, Nadim A., Shaath and Mdhu A. Pathak. (1997). Interpretation and evaluation spectroscopic data from sunscreens. *Sunscreens- Development, Evaluation and Regulatory Aspects. Second Edition, Revised and Expanded* pags. 709-761.
11. Osterwallder U, Herzog, B. (2002). New Systems of broad spectrum UV protection. *IFSCC Magazine*. 5: 169-175.
12. Diffey, B,L. and Robson,J. (1989). A New Substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 40, 127-133.
13. Diffey, B., Tanner, P., Matts, J. And Nash, F. (2000). In vitro assessment of the broad-spectrum ultraviolet of sunscreens products. *J. Am. Acad. Dermatol.* 43 (6):1024-1035.
14. The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association, COLIPA (2009). In Vitro Method for the Determination of the UVA Protection Factor and "Critical Wavelength" Values of Sunscreen Products.
15. Pissavini, M. And Ferrero, L. In Vitro Determination of Sun Protection Factor (2004). *Business Briefing: Global Cosmetics Manufacturing*: 1-5.
16. Lowe, N., Shaath, N., Pathak,M. (1997). Sunscreens Development, Evaluation, and Regulatory Aspects. Second Edition, Revised and Expanded. Pag. 254.
17. Akin, F., Rose III, A., Chamness, T, and Marlowe, E. (1979). Sunscreen Protection Against Drug-Induced Phototoxicity in Animal Models.*Toxicology and Applied Pharmacology.* 49, 219-224.
18. Groves,G., Forbes, P.(1982). A Method For Evaluating The Photoprotective Action of Sunscreens Against UV-A Radiation. *International Journal of Cosmetic Science*,4, 15-24.
19. Gange, W. Soparkar, A., Matzinger, E., Dromgoole, S., Sefton, J., and Degryse, R. (1986). Efficacy of a Sunscreen Containing Butylmethoxydibenzoylmethane Against Ultraviolet A Radiaton in Photosensitized Subjects. (1986) *J. Am. Acad.Dermatol.* 15: 494-499.
20. Kockler, J., Oelgemöller, M., Robertson, S. and Glass, B. (2012). Photostability of sunscreens. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews.* 13, 91-110.
21. Gonzalez, E., Tarras-Wahlberg, N., Strömdahl, B., Juzeniene, A., Moan, J., Larkö, O., Rosén, A. and Wennberg, M. Photostability of commercial sunscreens upon sun exposure and irradiation by ultraviolet lamps. *Research article* (2007). *BMC Dermatology* 7:1.
22. Marrot, L., Belaidi, J.P., Lejeune, J.R., Meunier, J.R., Asselineau, D., And Bernerd, F. Phostostability of sunscreens products influences the efficiency of protection with regard to UV-induced genotoxic or photoageing-related endpoints. (2004) *British Journal of Dermatology*, 151: 1234-1244.
23. Hojerová, J. Medovčíková, A. and Mikula, M. (2011). Photoprotective efficacy and photostability of fifteen sunscreen products having the same label SPF subjected to natural sunlight. *International Journal of Pharmaceutics.* 408: 27-38.
24. Pissavini, M., Baud, A., Marguerie, S., Dessille, K. and Doucet ,O. New Method to Reproduce IN Vitro Cosmetic Product Photostability Findings.(2012) *Cosmetics and Toiletries magazine.* 127 (3) 208-218.
25. Berset, G., and Gonzenbach, H. (1996). *International Journal of Cosmetic Science.* 18, 166-177.
26. Couteau,C. Faure, A. Fortin, J. Papisaris,E. Coiffard, L. (2007). Study of the photostability of 18 sunscreens in creams by measuring the SPF in vitro. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 44, 270-273.

27. Miura, Y. Takiguchi, Y. Shirao, M. Takata, S. Yanagida, T. Fukui, H. Naganuma, M. and Hatao, M. (2008). Algorithm for in vitro Sun Protection Factor Based on Transmission Spectrum Measurement with concomitant Evaluation of Photostability. *Photochemistry and Photobiology*. 1-7.
28. Schroeder, P. And Krutmann, J. Do We need infrared A photoprotection? (2010). *Expert Rev. Dermatol.* 5 (6): 627-631
29. Schroeder, P. Lademann, J. Darvin, M. Stege, H. Marks, C. Bruhnke, S. And Krutman, J. Infrared Radiation-Induced Matrix Metalloproteinase in Human Skin: Implications for Protection. (2008). *Journal of Investigative Dermatology*. 128: 2491-2497.
30. Schroeder, P. Pohl, C. Calles, C. Marks, C. Wild, S. And Krutmann, J. Cellular response to infrared radiation involves retrograde mitochondrial signaling (2007). *Free Radical Biology and Medicine*. 43: 128-135.
31. Schroeder, P. Calles, C. And Krutman, J. (2009). Prevention of infrared-A Radiation Mediated Detrimental Effects in Human Skin. *Skin Therapy Letter.com*.

LA RESERVA CEREBRAL Y COGNITIVA

BRAIN AND COGNITIVE RESERVE

Carlos M Baratti *, ***, Mariano M Boccia*, Mariano G Blake*, María C Krawczyk**

Laboratorio de Neurofarmacología de los Procesos de Aprendizaje y Memoria, Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 5º Piso, C1113AAD, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Miembros de la Carrera del Investigador Científico y Tecnológico (CONICET) y **

**Becaria del CONICET.

*** cbaratti@ffyb.uba.ar

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen – Summary	84
Introducción	85
Reserva cerebral, reserva cognitiva o reserva cerebral y cognitiva	86
Como media la RCC entre la severidad de una patología cerebral y su expresión clínica	86
Las medidas de la RCC	87
El modelado de la RCC en los animales de laboratorio	87
Sentido neurobiológico y clínico de la RCC	89
Conclusiones	89
Referencias Bibliográficas	90

RESUMEN

El concepto de reserva cerebral y cognitiva (RCC) fue establecido con el objeto de explicar por qué y cómo ciertos individuos, pese a estar afectados por una patología cerebral, no expresan las alteraciones cognitivas que normalmente se asocian con dicha patología, en comparación con otros que con igual grado de afectación patológica sí lo hacen. La RCC puede ser considerada como una capacidad del cerebro adulto que le permite reducir o compensar la sintomatología clínica cognitiva de la enfermedad. Gran parte de los conocimientos acerca de la RCC provienen de los estudios realizados en pacientes con Enfermedad de Alzheimer y también serían aplicables a otras condiciones neuropsiquiátricas y al envejecimiento. Sus bases neurobiológicas no se encuentran totalmente establecidas, aunque se acepta que existe un componente neuroanatómico (densidad sináptica e interconectividad neuronal) relativamente pasivo (reserva cerebral) y un componente funcional activo (eficiencia de circuitos y redes neuronales) implicado en forma directa o indirecta en los procesos cognitivos (reserva cognitiva) Ambos componentes son complementarios. Se conocen diversas variables que se asocian con una mayor RCC humana: cociente intelectual, años e intensidad de la educación formal, ocupación, actividad física, estimulación cognitiva, ocio constructivo, bilingüismo, etc. La RCC humana puede ser modelada parcialmente en los animales de laboratorio, sometiendo a éstos en distintos períodos de su desarrollo a un ambiente enriquecido. La idea de potenciar las funciones cognitivas (atención, aprendizaje, memoria, selección y toma de decisiones) mediante el empleo de psicoestimulantes (anfetaminas, metilfenidato, modafinilo) por

parte de individuos sanos, ha sido propuesta como un sucedáneo farmacológico de las actividades naturales que influyen a la RCC. Los alcances y limitaciones de estas drogas conocidas como “inteligentes”, no son conocidos y plantean, al menos, una “disonancia ética”.

Palabras clave: Reserva, reserva cerebral, reserva cognitiva, Enfermedad de Alzheimer, ambiente enriquecido, facilitadores de la cognición.

SUMMARY

The concept of brain and cognitive reserve (BCR) is widely used to explain why and how, in the face of neurodegenerative changes (and several others neurological and psychiatric conditions) that are similar in nature and extent, individuals vary considerably in the severity of their cognitive performance. That is, BCR as a feature of brain structure and function modifies the relationships between brain pathology and cognitive performance. Brain reserve generally refers to the structural neural substrate (synaptic density and neuronal interconnectivity) that supports cognitive functions, whereas cognitive reserve refers to a functional active component based on the efficiency of neural circuits and networks. The brain reserve and cognitive reserve concepts are not mutually exclusive. Intellectual quotient, education, occupation, complex leisure behaviors, cognitive stimulation and physical activity, has been shown to strengthen BCR. The human BCR may be partially modeled housing laboratory animals in enriched environments. Many stimulants medications (amphetamines, methylphenidate, modafinil) used to treat psychiatric and neurological conditions also improve cognitive performance of the healthy. These drugs are named “cognitive enhancers” or “smart drugs”. There is not enough information about the long-term effects, on healthy individuals, of these drugs, since they can have serious side actions. The use of cognitive enhancing drugs raises several ethical questions.

Key words: Reserve, brain reserve, cognitive reserve, Alzheimer’s disease, enriched environments, cognitive enhancers.

INTRODUCCIÓN

El concepto de Reserva Cerebral y Cognitiva (RCC) tiene su origen a partir de diversas observaciones epidemiológicas [1], más tarde avaladas parcialmente por otras de naturaleza clínica, anatomopatológica y neuropsicológica [2], las cuales sugieren que no existe una relación directa entre la magnitud de un daño infligido al cerebro y la expresión clínica conductual y cognitiva que sería dable esperar ante dicho daño [1]. En este contexto, la primera referencia al término “reserva” se encuentra en el trabajo de Katzman y col. (1988) [3]. Estos autores estudiaron a lo largo de varios años las capacidades cognitivas de pacientes internados en una institución geriátrica. En un grupo reducido de ellos, no hallaron evidencias significativas de una declinación cognitiva. Pese a ello, el examen post-mortem de sus cerebros reveló una anatomopatología compatible con la observada en la Enfermedad de Alzheimer (EA) [4, 5] y, aun más sorprendente, un mayor tamaño cerebral y del número de neuronas neocorticales, con relación a otros pacientes que sí manifestaron trastornos cognitivos atribuibles a la EA. Estos hallazgos fueron interpretados asumiendo que a nivel cerebral podrían existir diferencias estructurales (y quizás funcionales), que constituirían una “reserva” para que ciertos individuos, aun cuando fuesen portadores incipientes de la enfermedad, no manifestaran los trastornos cognitivos asociados con ella [3]. Poco después, Stern y col. (1992) [6] compararon los flujos sanguíneos cerebrales regionales en pacientes con la EA, a los cuales agruparon por grado de deterioro clínico, pero con diferentes niveles de escolaridad. Aquellos con un mayor grado de escolaridad (años de educación formal) presentaron también un déficit más severo de perfusión sanguínea a nivel de la región parietotemporal, sugiriendo una patología subyacente más avanzada, pero no acorde con su manifestación clínica. Así, los años y la intensidad de la educación formal de un individuo, podrían también constituir parte de una hipotética “reserva” destinada a que el Sistema Nervioso Central (SNC) adulto, se adapte transitoriamente a una patología minimizando sus manifestaciones clínicas [6, 7].

La hipótesis de la RCC es un concepto heurístico que permite explicar cómo el SNC amortigua las alteracio-

nes cognitivas de una patología cerebral subyacente [8], en particular los estados demenciales asociados a la EA [9], del envejecimiento [10, 11] y de otras diversas condiciones, tales como el abuso de alcohol [12], la epilepsia [13], la esclerosis múltiple [14], el déficit cognitivo ligado a la apnea del sueño [15], la expresión neuroconductual de la inmunodeficiencia adquirida por HIV [16] y otras entidades psiquiátricas [17].

En el presente trabajo se analizan algunos aspectos concretos de la RCC, sus alcances y limitaciones y, en tanto un proceso dinámico que evoluciona a lo largo de la vida, su posible importancia ante una disfunción cerebral.

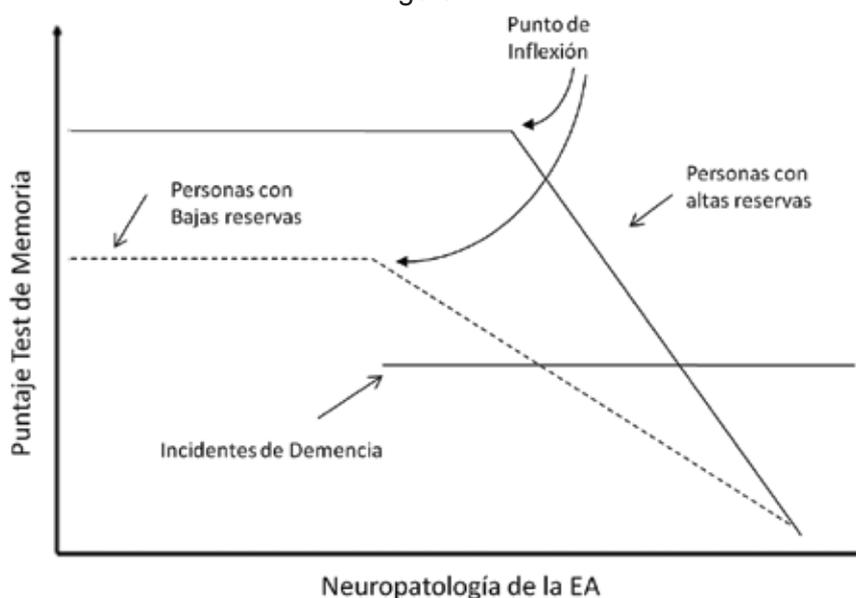
RESERVA CEREBRAL, RESERVA COGNITIVA O RESERVA CEREBRAL Y COGNITIVA

Para algunos autores es necesario distinguir entre reserva cerebral y reserva cognitiva [1]. La primera, también denominada reserva estructural pasiva, está basada en la presencia de determinadas características neuroanatómicas cerebrales, tales como el tamaño del cerebro, la densidad sináptica y sus interconexiones [18]; se la considera pasiva, ya que representaría la cuantía del daño cerebral que podría ser sostenido por el SNC, antes de que se alcance el umbral a partir del cual se expresaría clínicamente la patología portada por el paciente. A su vez, la reserva cognitiva, o reserva funcional activa, dependería de la eficiencia con que operarían distintos circuitos y redes neuronales implicados en forma directa o indirecta en los procesos cognitivos [2], mediante los cuales el cerebro se adapta al daño sufrido utilizando a éstos en forma dinámica, o bien reclutando a nuevos circuitos o redes con objeto de, al menos, compensar cognitivamente el daño sufrido [1]. Desde ese punto de vista, la reserva cognitiva es activa. Los conceptos de reserva cerebral y reserva cognitiva no se excluyen mutuamente sino que, por el contrario, se complementan en la medida en que los cambios morfológicos pueden acompañarse de cambios funcionales y viceversa [2, 19], de modo tal que a lo largo de este trabajo mantendremos el concepto de RCC.

CÓMO MEDIA LA RCC ENTRE LA SEVERIDAD DE UNA PATOLOGÍA CEREBRAL Y SU EXPRESIÓN CLÍNICA

El concepto de RCC propone que es posible desarrollar recursos mediante los cuales se podrían reducir temporalmente los riesgos y las consecuencias de una eventual alteración cognitiva asociada a una disfunción orgánica del SNC [1, 9, 20]. Sin embargo, la presencia de una RCC adecuada no altera la evolución del trastorno cerebral subyacente; tan sólo retrasa o previene su detección. Ello implica que al observarse sus primeras manifestaciones neurobiológicas, su progresión y el deterioro cognitivo del paciente parecerían acelerarse. La Figura 1, muestra como la RCC podría mediar entre la severidad de la patología en cuestión y su manifestación clínica [20].

Figura 1



Se asume que la patología cerebral subyacente (por ejemplo la EA) aumenta de manera progresiva desde sus inicios, los cuales podrían haber tenido lugar varios años antes de sus primeras manifestaciones y diagnóstico clínico. Las curvas mostradas en la Figura 1, vinculan a la evolución que experimentan los rendimientos mnemónicos de individuos con alta RCC y baja RCC, con la intensidad de sus patologías cerebrales. Éstas, en algún momento provocarán cambios cognitivos, representados por los puntos de inflexión de cada curva; posteriormente se agravarán y posibilitarán su diagnóstico (demencia). La RCC modulará la expresión cognitiva de la patología en cuestión. Obsérvese que los individuos con alta RCC presentan paradójicamente una mayor patología cuando la demencia es diagnosticada [20] (Figura 1).

LAS MEDIDAS DE LA RCC

Desde la publicación del estudio llevado a cabo por Katzman y col. (1988) [3], se han acumulado evidencias a favor y en contra del concepto de RCC [21], probablemente debido a la falta de uniformidad en cuanto a la selección de los sujetos estudiados, al gran número de variables que deben ser controladas y que no pueden ser incorporadas simultáneamente a un estudio en particular y a la disparidad de criterios para definir qué es lo que debe ser medido. Así, el componente pasivo de la RCC podría ser evaluado a través de medidas anatómicas y antropométricas (volumen cerebral e intracraneal y circunferencia máxima del cráneo), las cuales reflejarían indirectamente al número de neuronas presentes en el cerebro al momento de su determinación [1]. En general, este acercamiento no revela una asociación consistente entre la RCC de los pacientes con EA y la manifestación clínica de su demencia, salvo cuando los valores encontrados son muy bajos o se suman factores de riesgo (alelo APOE 4, atrofia cerebral, etc.) [22, 23, 24]. Por otra parte, los niveles y años de educación formal, la calidad e intensidad de las actividades sociales diarias, los ejercicios físicos e intelectuales, el tiempo dedicado al ocio constructivo, etc., proporcionan cierta protección contra las consecuencias funcionales de la enfermedad y del envejecimiento [25], y son considerados como contribuyentes de la reserva activa y funcional de la RCC [2, 21].

Las técnicas de imágenes cerebrales son de gran valor para estudiar la implementación neuronal de los sustratos y variables que se asume podrían reflejar a la RCC [26]. Tanto las técnicas que revelan componentes estructurales (Resonancia Magnética), como funcionales (Tomografía por Emisión de Positrones y Resonancia Magnética Funcional), aplicadas por ejemplo al proceso de envejecimiento normal o patológico, destacan la importancia de varios de los factores pasivos y activos antes mencionados (proxies) y su vinculación con los flujos sanguíneos y el metabolismo cerebral de la glucosa, para el conocimiento paulatino de los sustratos neurobiológicos relacionados con la RCC [26].

EL MODELADO DE LA RCC EN LOS ANIMALES DE LABORATORIO

Los modelos animales están constituidos por preparaciones experimentales que en condiciones controladas permiten estudiar un fenómeno específico en una determinada especie, cuando dicho fenómeno se presume que también existe en otra. Ello implica aceptar que existe una identidad cualitativa entre los mecanismos y los procesos que caracterizan al fenómeno en cuestión en, por ejemplo, la especie humana y los presentes en la especie (rata, ratón, etc.) que será utilizada para modelar aquello que es de interés para el investigador. Utilizamos el término “modelar” y no “reproducir”, ya que los modelos animales no recapitulan necesariamente a las patologías humanas y no “representan a la enfermedad en miniatura” [27]. La validación teórica de un modelo animal requiere del cumplimiento de varios criterios que deben ser consensuados [28, 29].

El desarrollo de la RCC es dependiente del genotipo individual y está influenciado por factores epigenéticos y por la exposición continua desde la gestación a condiciones ambientales y sociales altamente dinámicas [2]. En este contexto, se considera relevante para el estudio de la RCC humana el diseño de experimentos controlados que utilicen animales de laboratorio (ratas y ratones) criados y/o mantenidos en ambientes enriquecidos (AE) (Figura 2) [2].

Donald Hebb (1947) [30], fue el primero en sugerir que las experiencias tempranas derivadas de las condicio-

Figura 2



nes físicas en que se alojan los animales de laboratorio, podrían tener consecuencias en sus posteriores desempeños conductuales durante la vida adulta. Desde entonces, se han documentado cambios fisiológicos, neurobiológicos y del comportamiento en roedores como consecuencia del enriquecimiento de sus ambientes [2, 19, 31, 32, 33].

Un AE es aquel que le proporciona a los sujetos allí alojados estímulos sensoriales, motores, sociales y cognitivos, de mayor cuantía y variedad con relación a los proporcionados por las condiciones estándar de alojamiento. El AE que muestra la Figura 2 [2], es una de las tantas configuraciones físicas que se utilizan con ese propósito y cuyas descripciones detalladas pueden ser encontradas en la bibliografía citada. En este punto nos interesa destacar que una parte significativa de la constelación de estímulos a los que se somete a un animal de laboratorio alojado en un AE es, a grandes rasgos, equivalente a la que impacta al ser humano en su vida diaria y que podría contribuir al desarrollo y mantenimiento de su RCC. En tal sentido, el AE induce diversas modificaciones en la estructura y la función del SNC [34], parte de las cuales se vinculan con la génesis y maduración de nuevas neuronas en circuitos funcionales [35, 36]. A ello se agrega la influencia positiva que ejercen los AE sobre la expresión de genes relacionados con la estructura neuronal y la neurotransmisión [37] y sobre los procesos de plasticidad sináptica dependientes de las experiencias, estrechamente ligados al aprendizaje y a la memoria [19]. Todo ello conduce a un fortalecimiento de la interconectividad sináptica, lo cual favorecería la actividad de circuitos neuronales preexistentes, o bien permitiría reclutar redes neuronales alternativas cuando fuese necesario [19]. En párrafos anteriores adelantamos que estas actividades neuronales dependientes de las experiencias, podrían ser parte de los sustratos neurobiológicos de la RCC. Es importante destacar que los conceptos de AE y RCC, también son relevantes para los trastornos psiquiátricos (esquizofrenia, depresión mayor y depresión bipolar) que conllevan alteraciones cognitivas [2, 19].

SENTIDO NEUROBIOLÓGICO Y CLÍNICO DE LA RCC

Las posibles relaciones entre la RCC y una patología cerebral subyacente, tomando como ejemplo a la EA, se resumieron en la Figura 1 [20]. De ellas se desprende que la RCC por sí sola no puede modificar la evolución de la enfermedad. Tengamos en cuenta que la EA es una patología cerebral neurodegenerativa, de etiología desconocida, aunque multifactorial, siendo la edad uno de los factores de riesgo primordiales y no modificable [38]. La patología cerebral propia de la EA se caracteriza por el agregado anormal de proteínas a nivel intraneuronal (proteína tau hiperfosforilada en forma de ovillos neurofibrilares) y proteína beta-amiloide extraneuronal (placas seniles) [5]. Es interesante señalar que los AE, como uno de los contribuyentes para el desarrollo y mantenimiento de la RCC, podrían reducir los niveles cerebrales de proteína beta-amiloide en ratones transgénicos que modelan ciertas características de la EA [39].

El término **demencia** se refiere a un “síndrome definido como un deterioro cognitivo o una alteración conductual adquirida o ambos, suficientemente importantes como para afectar la esfera funcional del individuo” [40]. Puede tener origen a partir de trastornos neurodegenerativos, vasculares, traumáticos, desmielinizantes, neoplásicos, inflamatorios, etc. La EA representa la causa principal de demencia (59%) en los países occidentales y su prevalencia aumenta de manera exponencial entre los 65 y 80 años de edad [40]. Para completar este escenario, en los últimos dos siglos prácticamente se ha duplicado la expectativa de vida en una proporción importante de la población global, lo cual se ha acompañado de un incremento significativo de las patologías cerebrales dependientes de la edad, que pueden expresarse a través de alteraciones cognitivas (deterioro de la memoria de corto y largo plazo, afasias, apraxias, agnosias) (DSM-IV-R, 2000). En nuestro país, el 10,2 % de la población posee 65 (o más) años de edad, mientras que el 2,5 % corresponde a personas de 80 (o más) años de edad; el índice de envejecimiento creció del 30,5 % en 2001, al 40,2 % en 2010 (Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas, INDEC, 2010). Se estima que en la República Argentina existe una población de aproximadamente 500.000 pacientes afectados por la EA [41], que es un trastorno de alta significación para quien lo padece y que se extiende al núcleo familiar y social al cual pertenece, y al ámbito de la Salud Pública.

Si un tratamiento pudiese retrasar el comienzo clínico de la EA, en particular su fase demencial, se reduciría en un 57 % el número de pacientes en una generación [41]. Precisamente, una de las posibles intervenciones no farmacológicas que podrían implementarse con tales fines, radicaría en favorecer el desarrollo y el mantenimiento de la RCC, lo cual le otorga a ésta su pleno sentido neurobiológico y significación clínica. Sin embargo, reiteramos que aquellos individuos con una considerable RCC estarían también en condiciones de “enmascarar” sus alteraciones cognitivas leves, retrasando su diagnóstico. Esta situación paradójica se suma a otras de naturaleza médica, psicológica, social y económica, que tornan imperiosamente necesario la detección precoz de la EA. Ello se está alcanzando paulatinamente a través de la implementación de “marcadores biológicos” que posibilitan una confirmación diagnóstica in vivo de la EA [42].

CONCLUSIONES

En la figura 3 [19], se representan algunos de los factores principales (estimulación cognitiva y sensorial, actividad física, genética y epigenética individual, interacciones con el ambiente) que contribuyen al desarrollo y sostenimiento de la RCC, y se indican posibles mediadores neurobiológicos de la misma. El concepto de RCC es aplicable a toda situación en la cual el SNC tolera las consecuencias cognitivas (aprendizaje, memoria, atención, etc.) de una patología o del envejecimiento. Asimismo, sugiere que existe una gran variabilidad en la manera en que se procesa la información cognitiva y en las respuestas adaptativas individuales puestas en juego para mantener a aquellas, dentro de límites razonables. Es obvio que los programas de actividades físicas y mentales [19] encaminados a potenciar la RCC, no son farmacológicos. En este sentido, nos parece importante destacar (y advertir) que a partir de 2008, varios neurocientíficos plantearon un quiebre con la idea de que los fármacos han de servir en esencia para el tratamiento de enfer-

medades [43]. Se referían específicamente a poner a disposición de personas sanas, drogas psicoestimulantes (anfetaminas, metilfenidato, modafinilo, etc.) con objeto de incrementar su capacidad atencional, sostener estados de vigilia, el aprendizaje, etc. Son drogas conocidas como “facilitadoras de la cognición” o “drogas inteligentes” [44]. Tal uso no cuenta con la aprobación correspondiente y, en algunos países, son populares entre las comunidades estudiantiles. No conocemos los efectos que a largo plazo podrían provocar (¿adicción?), y no parecería racional promover su empleo para mejorar a las capacidades cognitivas [43].

Figura 3



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

[1] Stern, Y. (2002) What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 8: 448-460.

[2] Petrosini, L., De Bartolo, P., Foti, F., Gelfo, F. y col. (2009) On whether the environmental enrichment may provide cognitive and brain reserves. *Brain Res. Rev.* 61: 221-239.

[3] Katzman, R., Terry, R., DeTeresa, R., Brown, T., y col. (1988) Clinical, pathological, and neurochemical changes in dementia: A subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques. *Ann. Neurol.* 23: 138-144.

[4] Beelen, M.J. (2009) Cognitive reserve in Alzheimer’s disease: implications for detection and prevention. *J. Lancaster Gen. Hospital* 4: 94.

[5] Querfurth, H. W., La Ferla, F. (2010) Alzheimer’s Disease. *NEJM* 362: 329-344.

[6] Stern, Y., Alexander, G.E., Prohovnik, I., & Mayeux, R. (1992). Inverse relationship between education and parietotemporal perfusion deficit in Alzheimer’s disease. *Annals of Neurology*, 32: 371-375.

[7] Katzman, R. (1993). Education and the prevalence of dementia and Alzheimer’s disease. *Neurology*, 43, 13-20.

[8] Harris, P., Allegri, R. F. (2009) Reserva cognitiva y su efecto protector frente a la patología cerebral. *Arch. Neurol.*

Neuroc. Neuropsiquiatr. 18: 38-48.

[9] Stern, Y. (2006) Cognitive reserve and Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 20: 112-120.

[10] Snowdon, D. (2003) 678 monjas y un científico. Ed. Planeta. *Psicothema* 15: 500-506.

[11] Steffener, J., Stern, Y. (2012) Exploring the neural basis of cognitive reserve in aging. *Bioch. Bioph. Act.* 1822: 467-473.

[12] Fein, G., Di Sclafani, V. (2004) Cerebral reserve capacity: implications for alcohol and drug abuse. *Alcohol* 32: 63-67.

[13] Pai, M. C., Tsai, J. J. (2005) Is cognitive reserve applicable to epilepsy? The effect of educational level on the cognitive decline after onset of epilepsy. *Epilepsia* 46: 7-10.

[14] Cader, S., Cifelly, A., Abu-Omar, Y., Palace, J. y col. (2005) Reduced brain functional reserve and altered functional connectivity in patients with multiple sclerosis. *Brain* 129: 527-537. [15] Alchanatis, M., Zias, N., Deligiorgis, N., Amfilochiou, A. y col. (2005) Sleep apnea-related cognitive deficits and intelligence: an implication of cognitive reserve theory. *J. Sleep Res.* 14: 69-75.

[16] Thames, A. D., Foley J. M., Panos, S. E., Singer, E. J. y col. (2011) Cognitive reserve masks neurobehavioral expression of human immunodeficiency virus-associated neurological disorder in older patients. *Neurobehav. HIV Med.* 3: 87-93.

[17] Barnett, J. H., Salmond, C. H., Jones, P. B., Sahakian, B. J. (2006) Cognitive reserve in neuropsychiatry. *Psychological Med.* 36: 1053-1064.

[18] Satz, P. (1993) Brain reserve capacity on symptom onset after brain injury: a formulation and review of evidence for threshold theory. *Neuropsychology* 7: 273-295.

[19] Nithianantharajah, J., Hannan, A., J. (2009) The neurobiology of brain and cognitive reserve: mental and physical activity as modulators of brain disorders. *Prog. Neurobiol.* 89: 369-382.

[20] Stern, Y. (2009) Cognitive reserve. *Neuropsychologia* 47: 2015-2028.

[21] Allen, J. S., Bruss, J., Damasio, H. (2005) The aging brain: The cognitive reserve hypothesis and hominid evolution. *Am. J. Biol.* 17: 675-689.

[22] Borenstein Graves, A., Mortimer, J. A., Bowen, J. D., McCormick, W. C. y col. (2001) Head circumference and incident Alzheimer's disease. Modification by apolipoprotein E. *Neurology* 57: 1453-1460.

[23] Pernecky, R., Wagenpfeil, S., Lunetta, L., Cupples, L. A. y col. (2010) Head circumference, atrophy, and cognition. Implications for brain reserve in Alzheimer disease. *Neurol* 75: 137-142.

[24] Valenzuela, M. J. (2008) Brain reserve and the prevention of dementia. *Curr. Op. Psych.* 21: 296-302.

[25] Richards, M., Deary, I. J. (2005) A life course approach to cognitive reserve: a model for cognitive aging and development? *Ann Neurol* 58: 617-622.

- [26] Bartrés-Faz, D., Arenaza-Urquijo, E.M. (2011) Structural and functional imaging correlates of cognitive and brain reserve hypotheses in healthy and pathological aging. *Brain Topogr.* 24: 340-357.
- [27] McKinney, W.T. (1984) Animal models of depression: an overview. *Psychiatr. Dev.* 2: 77-96.
- [28] Van der Staay, F.J. (2006) Animals models of behavioral dysfunctions: Basic concepts and classifications, and an evaluation strategy. *Brain Res. Rev.* 52: 131-159.
- [29] Van der Staay, F.J., Arndt, S. S., Nordquist, R. E. (2009) Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders. *Behav. Brain Functions* 5: 11-34.
- [30] Hebb, D.O. (1947) The effects of early experience on problem-solving at maturity. *Am. Psychol.*, 2: 306-307.
- [31] Bennett, E. L., Diamond, M., C., Krech, D., Rosenzweig, M. R. (1964) Chemical and anatomical plasticity of brain. *Science* 146: 610-619.
- [32] Diamond, M.C. (2001) Response of the brain to enrichment. *An. Acad. Bras. Cienc.* 73: 211-222.
- [33] Rosenzweig, M. R., and Bennet, E. L. (1996) Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. *Behav. Brain Res.* 78: 57-65.
- [34] Van Praag, H., Kempermann, G., Gage, F. H. (2000) Neural consequences of environmental enrichment. *Nat. Rev. Neurosci.* 1: 191-198.
- [35] Aimone, J. B., Deng, W., Gage, F.H. (2010) Adult neurogenesis: integrating theories and separating functions. *TICS* 14: 325-337.
- [36] Kempermann, G., Fabel, K., Ehninger, D., Babu, H. y col. (2010) Why and how physical activity promotes experience-induced brain plasticity. *Front. Neurosci.* 8: 4-189.
- [37] Rampon, C., Jiang, C. H., Dong, H., Tang Y. y col. (2000) Effects of environmental enrichment on gene expression in the brain. *PNAS* 97: 12880-12884.
- [38] Valls-Pedret, C., Molinuevo, J. L., Rami, L. (2010) Early diagnosis of Alzheimer's disease: the prodromal and preclinic phase. *Rev. Neurol.* 51: 471-480.
- [39] Lazarov, O., Robinson, J., Tang Y., Hairston, I. y col. (2005) Environmental enrichment reduced A β levels and amyloid deposition in transgenic mice. *Cell* 120: 701-713.
- [40] Serrano, C., Allegri, R. (2006) Tratamiento farmacológico de la demencia. En: *El tratamiento farmacológico en psiquiatría* (Wikinski S, Jufe G Eds), pp 325-338. Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires.
- [41] Allegri, R.F. (2011) Un Nuevo concepto "El paciente con Alzheimer prodrómico". *Rev. Asoc. Mal Alzheimer Argentina* 2: 4.
- [42] Russo, M. J., Allegri, R. F. (2012) No se puede tapar el sol con las manos... Nuevos criterios diagnósticos en la enfermedad de Alzheimer. *Neurología Argentina* 4: 3-5.

[43] Krawczyk, M., Boccia, M. M., Blake, M.G., Baratti, C.M. (2011) Neuroética. *Revista SAFyBI* 51: 32.

[44] Stix G. (2009) Turbocharging the brain – Pills to make you smarter? *Sci. Am.* 301: 45-55.

EPILEPSIA CATAMENIAL VISTA COMO UNA ADAPTACIÓN MÓRBIDA CATAMENIAL EPILEPSY: A MORBID ADAPTATION

Rosa Eiraldi* & Pietro Fagiolino

Biofarmacia y Terapéutica – Departamento de Ciencias Farmacéuticas –
Facultad de Química – Universidad de la República

(*) Correspondencia: Dra. Rosa Eiraldi reiraldi@fq.edu.uy
Departamento de Ciencias Farmacéuticas. Facultad de Química.
Avenida General Flores 2124, CC 1157. 11800 Montevideo, Uruguay

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen. Summary	93
Introducción. Estructura temporal de las funciones biológicas	94
Adaptación y autorregulación de receptores	95
Epilepsia catamenial.....	96
Estrógenos y susceptibilidad a las crisis	97
Progesterona y susceptibilidad a las crisis	97
Neuroesteroides (NS)	98
Mecanismo modulador de los NS sobre los receptores GABA _A	99
Patología y tratamiento	100
Conclusiones	101
Bibliografía.....	101

RESUMEN

El presente artículo ofrece una visión de la epilepsia catamenial interpretada como una patología adquirida, originada a partir del diagnóstico de cierto tipo de epilepsia, que se torna refractaria en días específicos del ciclo menstrual, como resultado de una adaptación mórbida de determinada subpoblación de receptores GABA_A que alteraron su conformación estructural como consecuencia de oscilaciones en las concentraciones locales de neuroesteroides, originando un escenario proclive a las crisis en esos momentos concretos. Esta interpretación a partir de la generación de una resistencia reversible es compatible con los hallazgos clínicos tendientes a lograr esclarecer las causas de la epilepsia catamenial y la búsqueda continua de alternativas verdaderamente eficaces para su control.

Palabras claves: Epilepsia catamenial, neuroesteroides, farmacorresistencia, receptor GABA_A, adaptación.

SUMMARY

This paper provides an overview of catamenial epilepsy interpreted as an acquired pathology, arising from the diagnosis of certain types of epilepsy, which becomes refractory on specific days of the menstrual cycle as a result of an

morbid adaptation of a certain subpopulation of GABA_A receptors that altered their structural conformation as a result of fluctuations in local concentrations of neurosteroids, resulting in a crisis-prone stage in these particular times. This interpretation departs from the generation of a reversible resistance is compatible with clinical findings aimed at achieving clarify the causes of catamenial epilepsy and the continuing search for truly effective alternatives for control.

Keywords: Catamenial epilepsy, neurosteroids, drug resistance, GABA_A receptor, adaptation.

INTRODUCCIÓN. ESTRUCTURA TEMPORAL DE LAS FUNCIONES BIOLÓGICAS

Los sistemas vivos están organizados en el espacio pero también en el tiempo. Esta estructura de ritmos internos se organiza conforme ciclos de distintas frecuencias. Los ritmos biológicos son oscilaciones autosostenidas, estrategias adaptativas que organizan el interior del organismo en una estructura temporal que permite adecuaciones a la variación del entorno. Los cambios cíclicos ocurren para sobrevivir con más facilidad a los cambios ambientales (del día, de la semana, de las estaciones). La sobrevida se traduce como capacidad de una adecuada adaptación. Se encuentran variaciones cíclicas de distinta frecuencia en las funciones biológicas orquestadas estructuralmente desde los seres unicelulares, en su ambiente natural y en los medios de cultivo “in vitro”, hasta en los mamíferos y la especie humana (1) (2) (3).

La estructura de tiempo en los humanos también consiste en un espectro de ritmos superpuestos de diferentes frecuencias: ultradiana, circadiana, infradiana, circanual. Desde la vida intrauterina de una persona hasta su fallecimiento, tienen lugar en su fisiología cambios sucesivos. En condiciones normales la maduración, el funcionamiento óptimo y la declinación de las funciones vitales van sucediéndose al pasar las décadas y van transformándose no sólo desde su performance propiamente dicha, sino también en relación a su estructura temporal, en definitiva cambiando el perfil de su propia oscilación. Con esta perspectiva, sobrevivir es aprender, desde lo más profundo de la fisiología individual, a cambiar acompasadamente con el medio ambiente y sincronizadamente con el entorno. Adaptarse es saber traducir señales en la oportuna transformación fisiológica que permita la adecuación del organismo a la nueva situación, en un proceso de aprendizaje que es individual y propio de cada quien (4) (5) (6).

Las señales que promueven el cambio adaptativo pueden provenir desde el ambiente exterior o poseer un origen endógeno en condiciones normales o a partir de un proceso fisiopatológico. En algunas patologías crónicas las señales internas de adecuación promueven una adaptación que puede conducir a una situación de mayor morbilidad que la inicial, como es el caso de la insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) en su fase terminal.

Los ritmos circadianos (ciclos de 24 horas) se observan virtualmente en todas las funciones vitales de los mamíferos, desde la expresión de los genes hasta los complejos procesos fisiológicos. El reloj principal está presente como un conjunto de neuronas ubicadas en el núcleo supraquiasmático en la parte anterior del hipotálamo, controlando los relojes periféricos presentes en otras partes del cuerpo. La alteración de los ritmos circadianos puede ser la causa o el efecto de diversos trastornos, como el síndrome metabólico, enfermedades inflamatorias y cáncer. Por otra parte, los ritmos circadianos en la expresión de los genes pueden regular la disposición y la acción de los fármacos, afectando de esta manera la eficacia terapéutica y la toxicidad según a la hora de administración de los medicamentos (7) (8) (9) (10).

Las funciones del sistema cardiovascular están organizadas en el tiempo. Ciertas patologías del sistema cardiovascular ocurren con distorsión, inversión o destrucción del ritmo natural. Simultáneamente se aprecia que la farmacocinética y la farmacodinamia de los fármacos de acción sobre el sistema cardiovascular dependen en gran medida del momento circadiano de la patología y de la hora de administración del medicamento, llevando a una dependencia de la relación dosis-respuesta. El medicamento administrado a determinada hora conduce a un aumento de la eficacia, reduciendo efectos adversos y contribuyendo al ordenamiento natural del ritmo. Con la resincronización

se promueve un restablecimiento del equilibrio adaptativo. De ahí la importancia de la cronoterapia: administrar los medicamentos necesarios bajo una forma de liberación y momentos adecuados de forma de colaborar en la reversión de la desincronización causada por la patología, reorganizando la estructura temporal de las funciones vitales para prevenir y controlar mejor la enfermedad (9) (11) (12) (13).

Los ciclos circadianos son los más estudiados en los humanos. Los ciclos infradianos tienen una frecuencia mayor a 1 día, como el ciclo menstrual de la mujer. De la misma forma que muchas enfermedades cardiovasculares presentan ritmo circadiano en la severidad de los síntomas, intensidad de la patología y mortalidad, durante las distintas fases del ciclo menstrual de la mujer se han observado exacerbaciones (empujes o crisis) en el curso de ciertas enfermedades, entre otras Asma, Epilepsia, Glaucoma, y Alergias (14).

De forma análoga a la estrategia de reorganizar el ritmo circadiano mediante la cronoterapia en el tratamiento farmacológico de las patologías cardiovasculares, se pueden pensar intervenciones terapéuticas que modifiquen (controlando, aliviando) los empujes de enfermedades que se instalan en ciertos días del ciclo menstrual de la mujer, bajo la forma de tratamientos esporádicos, propios de ciertos días del mes, adecuados al “momento infradiano”.

El presente artículo ofrece una visión de la epilepsia catamenial interpretada como una patología adquirida, originada a partir del diagnóstico de cierto tipo de epilepsia, que se torna farmacorresistente o refractaria en días específicos del ciclo menstrual, como resultado de una adaptación mórbida de determinada subpoblación de receptores GABA_A que alteraron su conformación estructural como consecuencia de oscilaciones en las concentraciones locales de Neuroesteroides, originando un escenario proclive a las crisis en esos momentos concretos. Esta interpretación a partir de la generación de una resistencia reversible es compatible con los hallazgos clínicos tendientes a lograr esclarecer las causas de la epilepsia catamenial y la búsqueda continua de alternativas verdaderamente eficaces para su control.

ADAPTACIÓN Y AUTORREGULACIÓN DE RECEPTORES

Desde el punto de vista celular, la autorregulación es reconocida como una propiedad esencial de cierto tipo de receptores. En algunas sinapsis la afinidad y el número de receptores dependen de la actividad previa de la sinapsis. Los receptores como proteínas específicas de la célula poseen un ciclo biológico definido por el equilibrio entre los procesos de síntesis, movimiento y desintegración. La regulación puede expresarse con modificación en mayor o menor número de receptores (*down or up-regulation*) o por variación en la transducción de la señal del ligando. La desensibilización es la pérdida de respuesta, hecho conducente a un nuevo estado en el que la célula queda protegida frente a una estimulación excesiva o prolongada. Puede ser rápida o crónica, afectando cualquier eslabón de la cadena de la transducción, comenzando por el mismo receptor. Hay enfermedades que cursan determinando cambios en la densidad o en las propiedades de los receptores (15a) (15b).

Por ejemplo, la ICC en humanos es una patología que cursa con activación adrenérgica. Debido en parte a la sostenida y prolongada estimulación cardíaca simpática, en la ICC hay una alteración en la ruta del receptor β_1 , determinando una reducción de la respuesta a la estimulación adrenérgica. La desensibilización, el desacoplamiento y la *down-regulation* de los β -adrenoreceptores están asociados a una respuesta adaptativa al estrés. Esta habilidad de los β -adrenoreceptores se adquiere junto con el desarrollo de la inervación simpática en etapas uterinas. A largo plazo, en la ICC, el cociente entre las densidades relativas de los receptores adrenérgicos β_1/β_2 disminuye si se comparan el estado de corazón sano con el de corazón enfermo, debido a la regulación a la baja de los receptores β_1 , sin cambios en los receptores β_2 . Esta adaptación determina que en el estado final de la ICC hay una pérdida de 50% en la capacidad de respuesta adrenérgica. La exposición crónica al ligando (estímulo adrenérgico) promueve una *down-regulation* del receptor por medio de la combinación de mecanismos que involucran la internalización del receptor desde la membrana celular y su posterior degradación, así como el descenso en la expresión de su RNA mensajero. La liberación en forma continua de Noradrenalina en la ICC deteriora la respuesta funcional de los β -adrenoreceptores (16) (17) (18)..

El receptor GABA_A es miembro de la familia de receptores asociados a canales iónicos. Es una proteína transmembranal y pentamérica, cuyas subunidades se asocian conformando un canal permeable al Cl⁻. Entre muchas posibles combinaciones de subunidades puede expresarse ensamblando 2 subunidades α , 2 subunidades β , y 1 subunidad γ , o δ . Cada subunidad se compone de cuatro secciones transmembranales M1 a M4. La sección M2 de cada una de las 5 subunidades rodea al canal central de Cl⁻. El GABA se une en la hendidura entre las subunidades α y β , a la puerta del canal de corriente de Cl⁻. Las subunidades presentan varias isoformas que al ensamblarse otorgan propiedades diferenciales a las subpoblaciones de los receptores GABA. Una gran variedad de moduladores, incluyendo esteroides endógenos tales como la Tetrahidroprogesterona (THP), se unen a lugares únicos en el receptor GABA_A para aumentar la corriente de Cl⁻ (19).

Las poblaciones de los receptores GABA_A no son estáticas sino que están reguladas por los cambios en la actividad neuronal producidos por la exposición a agentes moduladores endógenos o exógenos (fármacos). Particularmente la subunidad $\alpha 4$ que normalmente es poco frecuente, exhibe un alto grado de plasticidad. Su expresión es sensible a cambios en los niveles de Neuroesteroides (NS) en el cerebro y de la duración de la exposición. Los NS son esteroides de origen gonadal o de ciertas zonas del SNC, que estructuralmente presentan reducción en posición 3 α ,5 α en el anillo A del pregnano. El vínculo entre el aumento de la expresión de la subunidad $\alpha 4$ y la excitabilidad neuronal se manifiesta con un aumento de la susceptibilidad a las convulsiones. Si hay fluctuaciones en los niveles de los moduladores endógenos de los receptores GABA_A, como las apreciadas en los NS durante el ciclo menstrual de la mujer, pueden darse situaciones que determinen un cambio en el umbral convulsivo en aquellas pacientes que adolecen de epilepsia catamenial. Se establecería en estas mujeres un escenario de adaptación mórbida debido al cambio conformacional de ciertas poblaciones del receptor GABA_A, cambiando el umbral convulsivo en determinadas fechas del ciclo menstrual, incluso en pacientes con buena adherencia al tratamiento con fármacos antiepilépticos (19) (20).

Los cambios que ocurren en los niveles de NS se han asociado con situaciones fisiológicas y fisiopatológicas como el estrés, el embarazo, el desarrollo del SNC y el envejecimiento (20).

EPILEPSIA CATAMENIAL

La epilepsia está caracterizada por la aparición imprevisible de las crisis. En la llamada epilepsia catamenial (derivado de la palabra griega *katomenios*, que significa mensual), las convulsiones se agrupan en torno a días específicos del ciclo menstrual. La epilepsia catamenial afecta del 31 al 60% de las mujeres con epilepsia; la gran variación en esta prevalencia es en parte debida a las diferencias metodológicas en el diagnóstico, comenzando por los criterios utilizados para definirla. En general, la epilepsia catamenial es aquella epilepsia que cursa con un aumento del doble o más en la frecuencia de las crisis durante una fase particular del ciclo menstrual (21).

La epilepsia catamenial es una enfermedad multifacética, todavía no cabalmente comprendida, atribuida a numerosas causas. Se supone que es una enfermedad adquirida y sin clara influencia de componentes genéticos. En general, está asociada a los cambios cíclicos en los niveles circulantes de Estrógenos y de Progesterona, aceptados como elementos centrales en el desarrollo de esta enfermedad en portadoras de determinado tipo de epilepsia. Las crisis catameniales son más comunes entre las mujeres con epilepsia focal y epilepsia del lóbulo temporal, en comparación con aquéllas que presentan epilepsia generalizada. Asimismo pueden inducir pérdida de la conciencia. Se observan en las mujeres tratadas con fármacos antiepilépticos de 1^a y 2^a generación, siendo una patología donde no hay una prevención eficaz o cura. Frecuentemente estas pacientes presentan estado de farmacorresistencia (21) (22).

Las fluctuaciones hormonales, en especial de Estrógenos, de Progesterona y sus metabolitos, se correlacionaron con los episodios de crisis catameniales. Estos últimos son anticonvulsivantes, mientras que los Estrógenos son proconvulsivantes. Un cociente de concentraciones de ambas hormonas (E/P) que sea alto puede pronosticar aumento en la susceptibilidad a las crisis. Otras hormonas esteroideas, como algunas adrenales y sus metabolitos, también influyen en la susceptibilidad a las crisis (21) (22).

La epilepsia catamenial se presenta en tres patrones denominados C1, C2, C3 según:

- C1 perimenstrual de ciclo ovulatorio
- C2 periovulatorio de ciclo ovulatorio
- C3 ciclo anaovulatorio

En los ciclos ovulatorios hay dos instancias en que la relación E/P está aumentada: en los días previos y subsiguientes a la ovulación y en los días previos y subsiguientes a la menstruación. En los ciclos anaovulatorios el cociente E/P es bajo en buena parte del ciclo menstrual, la exacerbación de las crisis se puede extender desde el día 9 de un ciclo hasta el día 2 del ciclo siguiente. La incidencia en los tres patrones, supera en cada caso el 70% (21) (22).

Dado que las fluctuaciones en las concentraciones de las hormonales gonadales (o sus metabolitos) se correlacionan con los días de mayor incidencia de crisis epilépticas en pacientes con epilepsia catamenial, es necesario abordar el posible mecanismo por el que estas oscilaciones hormonales conducen a un estado proconvulsivo en determinados días del ciclo menstrual. Esta influencia de las hormonas gonadales en la susceptibilidad a las crisis epilépticas muestra un patrón complejo (21) (22) (23).

ESTRÓGENOS Y SUSCEPTIBILIDAD A LAS CRISIS

Si bien hay controversia, se asume como evidencia que los estrógenos en animales y en humanos son proconvulsivantes y epileptogénicos, facilitando de diversas formas la inducción de crisis (23).

El Estradiol favorece la susceptibilidad a las crisis en principio por tres mecanismos. Por un lado, intensifica la neurotransmisión excitatoria mediada por los receptores de Glutamato, y por otro lado disminuye la inhibición GABAérgica en las neuronas del sistema límbico, la corteza cerebral, y otras regiones importantes relacionadas con la susceptibilidad a las convulsiones (22) (23).

El tercer mecanismo propuesto es que los estrógenos promueven la sobre-expresión de BDNF (*brain derived neurotrophic factor*), un agonista de los receptores TrkB. Los receptores TrkB pertenecen a la superfamilia de las quinasas, y al activarse incrementan la transmisión en el hipocampo, dando como resultado hiperexcitabilidad y efectos proconvulsivantes. El aumento de los niveles de estrógenos en la fase folicular tardía eleva los niveles del agonista BDNF pudiendo explicar así la epilepsia catamenial preovulatoria (24).

PROGESTERONA Y SUSCEPTIBILIDAD A LAS CRISIS

La bibliografía presenta un consenso en la evidencia a favor de los efectos anticonvulsivantes rápidos de la Progesterona en animales y en humanos, a diferencia de los estudios con estrógenos que son menos homogéneos.

Esta hormona ovárica posee 2 mecanismos de acción moleculares. Se une a los receptores intracelulares en un mecanismo que involucra la transcripción de genes, originando una respuesta no inmediata que tarda en expresarse minutos u horas. Pero además sus metabolitos son NS que tienen la propiedad de modular rápidamente el receptor GABA_A, por medio de un mecanismo no genómico de respuesta inmediata (segundos). Ambos mecanismos se ilustran en la figura 1 (21).

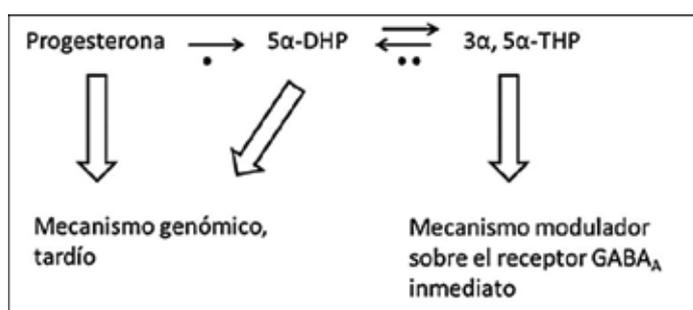


Figura 1. La enzima $\bullet 5\alpha$ -reductasa cataliza el paso limitante de Progesterona a 5α -Dihidroprogesterona (5α -DHP). La enzima $\bullet\bullet 3\alpha$ -hidroxiesteroideoxidorreductasa cataliza el paso reversible hacia $3\alpha,5\alpha$ -Tetrahydroprogesterona ($3\alpha,5\alpha$ -THP), conocida también como Alopregnanolona.

La comprensión del mecanismo molecular de acción de la Progesterona y sus metabolitos Dihidroprogesterona (DHP) y Tetrahydroprogesterona (THP) es importante a la hora de comprender sus efectos inmediatos o tardíos y reviste particular interés en la interpretación de la epilepsia catamenial.

NEUROESTEROIDES

Si bien DHP y THP son metabolitos de la hormona ovárica Progesterona, también son Neuroesteroides (NS): se pueden sintetizar en determinadas regiones del Sistema Nervioso Central (SNC), donde actúan. En concentraciones relativamente bajas mejoran la respuesta mediada por el GABA sobre el receptor GABA. A mayores concentraciones en el cerebro ejercen activación directa de estos receptores. Por lo tanto, los NS tienen una acción moduladora sobre los receptores GABA_A sinápticos y extrasinápticos, afectando su composición y número, siendo además GABA-miméticos a concentraciones mayores (19) (23) (25).

Tetrahydrodeoxicorticosterona (THDOC) y Androstanediol también son NS siendo Deoxicorticosterona y Testosterona sus precursores, por medio de una biotransformación en 2 etapas en las que intervienen las mismas enzimas 5α -reductasa y 3α -hidroxiesteroideoxidorreductasa que metabolizan la Progesterona a DHP primero y luego a THP. Testosterona además por medio de la acción de la enzima aromatasa se puede metabolizar a Estradiol con efectos proconvulsivantes (ver figura 2) (23). En la periferia los precursores de NS se sintetizan principalmente en las gónadas, glándulas suprarrenales, y unidad fetoplacentaria. También la síntesis de estos NS puede ocurrir en el sistema nervioso central (SNC) a partir del Colesterol. Como los precursores sistémicos de NS son altamente lipofílicos, pueden cruzar la barrera hematoencefálica, acumularse en el cerebro y promover los efectos ya mencionados (23) (25).

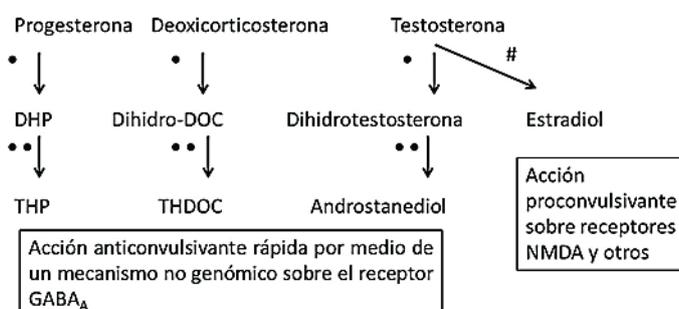


Figura 2. Efecto de los Neuroesteroides en la susceptibilidad a las crisis epilépticas. Las enzimas son $\bullet 5\alpha$ -reductasa, $\bullet\bullet 3\alpha$ -hidroxiesteroideoxidorreductasa, y # aromatasa. (23)

En resumen, y dado su origen dual, los NS actúan en el SNC de manera endócrina, si provienen del metabolismo de hormonas gonadales o adrenales vertidos al torrente sanguíneo, o de manera autócrina y parácrina, si se generan en las distintas estructuras del cerebro donde actúan.

Por medio de un mecanismo no genómico los NS pueden mejorar en forma potente y específica la actividad de los receptores GABA_A con efecto ansiolítico, analgésico, anticonvulsivante, sedante, hipnótico, anestésico, dependiendo de su concentración (19) (26).

Cuando decaen las concentraciones en el SNC de los NS se crea un entorno proclive a las crisis.

MECANISMO MODULADOR DE LOS NS SOBRE LOS RECEPTORES GABA_A

Los NS se unen a 2 sitios discretos del receptor GABA_A que se encuentran dentro de los dominios transmembranales de las subunidades α y β accediendo al receptor por difusión a través de la membrana lateral. Los sitios de unión para los NS son distintos de los sitios de reconocimiento para el GABA, las benzodiazepinas y los barbitúricos. Los 2 sitios de unión al receptor GABA_A se vinculan a las 2 acciones de los NS: sitio 1) potenciación de la corriente acoplada de Cl⁻, y sitio 2) activación directa del receptor. La teoría actual supone que la unión del NS al sitio 1, de alta afinidad, aumenta la eficacia de los NS hacia el sitio 2, activando directamente el receptor GABA_A (19).

Los receptores GABA_A se localizan en múltiples zonas de la membrana neuronal. En su ubicación sináptica promueven la respuesta "fásica", y en su ubicación extrasináptica promueven la corriente de "fondo" o "tónica". Los receptores extrasinápticos son activados por los bajos niveles de GABA del entorno causando la corriente tónica que tiene una influencia considerable sobre la descarga neuronal (20).

La corriente tónica reduce en forma sostenida la excitabilidad, contribuye a establecer el umbral para la transmisión del potencial de acción y a la integración de las señales. Los receptores GABA_A extrasinápticos que intervienen en su generación tienen características especiales: poseen afinidad muy alta por el GABA, se desensibilizan lentamente y su conformación estructural presenta subunidades δ que le confieren a los receptores GABA_A extrasinápticos, sensibilidad a la potenciación por NS. En algunas neuronas la corriente tónica está mejorada selectivamente por bajas concentraciones de NS del entorno que tienen poco efecto en la respuesta fásica, mediada por receptores sinápticos. Por medio del mecanismo antes descrito, los NS reducen la excitabilidad mejorando la inhibición (20) (25) (26) (27).

Cuando los niveles de los NS o los de sus precursores, fluctúan se puede perder el control de las convulsiones. El retiro fisiológico de la Progesterona conduce a una mayor excitabilidad, que predispone a las convulsiones (25).

La subunidad $\alpha 4$ tiene propiedades únicas. Normalmente es poco frecuente, pero exhibe un alto grado de plasticidad y es clave en relación con el aumento en la excitabilidad neuronal, la susceptibilidad a las convulsiones, y la resistencia a las benzodiazepinas. Simultáneamente los receptores GABA_A con subunidad δ se ubican extrasinápticamente, presentando muy escasa desensibilización, afinidad muy alta por el GABA, activándose a bajas concentraciones de NS (25) (26). La aparición de la subunidad δ se puede interpretar desde este contexto como la señal molecular de intensificación de la inhibición tónica (23).

La Progesterona y THP a partir de la fase folicular media aumentan la expresión de las subunidades δ , especialmente en los receptores GABA_A extrasinápticos (19) (25). La subunidad $\alpha 4$ se sobre-expresa al retirarse la Progesterona y su metabolito la THP, hacia el final de la fase lútea luego de una exposición de varios días, en la fase premenstrual. La derivación de esta fluctuación es que los receptores GABA_A extrasinápticos expresan subunidades $\alpha 4$ y δ , ensamblados como $\alpha 4\beta\delta$, dando lugar a la reducción de la inhibición, originando una mayor excitabilidad que predispone a las crisis (19) (25). Es el resultado de una adaptación provocada por las oscilaciones de los NS, que son potentes

moduladores de los receptores GABA_A extrasinápticos, receptores responsables de la corriente tónica en varias zonas del cerebro involucradas en la inhibición y control de la excitabilidad neuronal.

PATOLOGÍA Y TRATAMIENTO

La pregunta a responder seguidamente es: ¿por qué el 100% de las mujeres en edad fértil, en ritmo libre y normal de oscilación hormonal, no presentan crisis convulsivas durante el ciclo menstrual? La clave de la respuesta podría hallarse en la diferente conformación del receptor GABA_A extrasináptico (ensamblando las subunidades δ y $\alpha 4$) en determinadas mujeres epilépticas.

En el cerebro maduro, el GABA funciona principalmente como un neurotransmisor inhibitorio, pero también es un importante factor trófico que influye en varios procesos, particularmente en el desarrollo del SNC. Dados los niveles relativamente altos de los NS que experimenta el feto especialmente justo antes del parto, su influencia sobre el desarrollo y la plasticidad cerebral puede ser precoz, en especial cuando se instaló una inducción en los niveles de NS por estrés o por abuso de alcohol (20).

Cheryl A Frye postula que el estrés, de diferente fuente, puede presentarse en algunos individuos en las primeras etapas de la vida. Según este autor el estrés altera la susceptibilidad a las crisis al presentarse una modificación en el nivel de THP y otros NS, dado que la actividad de la enzima 5α -reductasa, que cataliza el paso limitante del metabolismo de la Progesterona y de otros precursores hacia NS, está disminuida en estas condiciones. En las etapas tempranas de la vida la exposición al estrés genera aumento de la vulnerabilidad a la epileptogénesis límbica en el adulto, hiperreactividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, respuesta disminuida a las hormonas gonadales, conducta ansiosa y depresiva. De esta particular manera las bajas concentraciones de NS llevarían a sobre expresar subunidades $\alpha 4$, y así causar la aparición de la enfermedad epiléptica (27).

Por otro lado, las mismas convulsiones generan estrés, creándose un ciclo mórbido que conduce a una eventual farmacoresistencia dada la reducida afinidad de la droga al receptor GABA. Esta farmacoresistencia se estaría adquiriendo por tanto como consecuencia de un estrés fármaco-independiente o en el curso de una enfermedad tratada con dosis insuficientes. Los fármacos anticonvulsivantes convencionales, incluyendo las benzodiazepinas y el Valproato, presentan por tanto una protección reducida (como "tolerancia cruzada") durante el período de mayor susceptibilidad a las convulsiones tras el descenso fisiológico de los NS (25) (27) al expresarse una conformación del receptor GABA_A extrasináptico ensamblando las subunidades $\alpha 4$ y δ .

A los efectos de controlar las crisis catameniales se han propuesto diversos tratamientos hormonales y no hormonales. Los hormonales incluyen planes de reposición con Progesterona (y antagonistas de estrógenos) en forma continua o intermitente, con Acetato de Medroxyprogesterona, Progesterona natural, u Hormona sintética Liberadora de Gonadotropina (GnRH). Los tratamientos no hormonales experimentados empíricamente utilizan Acetazolamida y Lamotrigina (21) (22).

El remplazo de NS como tratamiento de las convulsiones catameniales pudiera ser una alternativa farmacológica interesante toda vez que se lograran niveles adecuados en el SNC, ya que se inactivan por vía oral y su semivida de eliminación es de 20 minutos. Aún así hay que contemplar el hecho que la conversión de DHP hacia THP (Alopregnanolona) es un paso reversible. Por consiguiente, el NS podría biotransformarse hacia la DHP (ver figura 1), y así ejercer sus acciones hormonales sistémicas no buscadas con alteración de múltiples funciones (21).

Sin embargo, la Ganaxolone, 3β -metil análogo sintético de la Alopregnanolona no es sustrato de la mencionada enzima y por tanto ejercería solamente sus acciones neuromoduladoras, superando los obstáculos de los NS naturales con mejoras significativas en las propiedades farmacocinéticas. En estos momentos esta promisoriosa droga está

siendo evaluada en ensayos clínicos para el tratamiento de la epilepsia. Persiste la expectativa si será eficaz para los tres tipos de epilepsia catamenial (21) (25).

CONCLUSIONES

La epilepsia catamenial es una patología que afecta a un importante porcentaje de mujeres epilépticas y que ocasionalmente ocurre como una enfermedad refractaria al tratamiento tradicional, aún en pacientes con alto grado de adherencia a la prescripción de drogas antiepilépticas. Es una enfermedad cuyas causas aún no se han aclarado. Las bases moleculares que relacionan la susceptibilidad a las convulsiones en determinados períodos del ciclo menstrual se basan en la acción de aumento y posterior retiro de los NS endógenos sobre los receptores GABA_A extrasinápticos, modificando su composición y por lo tanto su comportamiento, incidiendo de esta forma sobre la corriente tónica inhibitoria y el umbral convulsivo en mujeres predispuestas.

En estos casos la plasticidad inherente a la población de receptores GABA_A extrasinápticos estaría determinando la expresión de receptores con sensibilidad disminuida debida a cambios constitutivos en sus subunidades. Es una adaptación del receptor al intenso tono inhibitorio promovido por altos niveles de NS en el SNC seguidos de su brusco retiro, promoviendo un escenario proclive a las crisis. En definitiva se convierte la epilepsia catamenial en una adaptación mórbida, en forma comparable a otras patologías.

Las subunidades $\alpha 4$ y δ se perfilan como blancos de nuevos fármacos. Mientras tanto la estrategia de reposición de NS sintéticos es una firme esperanza terapéutica.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- (1) Lemmer B. (1995) Clinical chronopharmacokinetics: The importance of time in drug treatment circadian clocks and their adjustment. *Ciba Foundation Symposium* 183:235-253.
- (2) Moore R.Y. (1997) Chemical neuroanatomy of the mammalian circadian system. In: Redfern P, Lemmer B, editors. *Handbook of experimental pharmacology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. 125: 79-93
- (3) Smolensky M.H. and Peppas NA. (2007) Chronobiology, drug delivery and chronotherapeutics. *ADDR*. 59: 828-851.
- (4) Haus E. and Touitou Y. (1997) Chronobiology of development and aging. In: Redfern P, Lemmer B, editors. *Handbook of experimental pharmacology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.; 125: 95-134.
- (5) Hastings M.H. (1997) The vertebrate clock: Localisation, connection and entrainment. In: Redfern P, Lemmer B, editors. *Handbook of experimental pharmacology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. 125: 1-28.
- (6) Fagiolino P, Eiraldi R, Vázquez M. (2011) Disposición de fármacos en el anciano. En *Tópicos de Actualización en Neurobiología, Envejecimiento y Neurodegeneración*. Publicación del Curso de la Red Temática 610RT0405 . México. ISBN: 978-607-450-402-6.
- (7) Sukumaran S., Almon R.R., DuBois D.C., Jusko W.J. (2010) Circadian rhythms in gene expression: Relationship to physiology, disease, drug disposition and drug action . *ADDR*. 62: 904-917.
- (8) Takeda N. and Maemura K. (2011) Circadian clock and cardiovascular disease. *J Cardiol*. 57: 249-256.
- (9) Portaluppi F., Tiseo R., Smolensky MH, Hermida R.C., Ayala D.E, Fabbian F. (2012) Circadian Rhythms And Cardiovascular Health. *Sleep Medicine Reviews*.16: 151-166.
- (10) Baraldo M. (2008) The influence of circadian rhythms on the kinetics of drugs in humans. *Expert. Opin. Drug. Metab. Toxicol*. 4 (2): 175-192.
- (11) Whitte K. and B Lemmer B. (1997) Rhythms in second messenger mechanisms. In: Redfern P, Lemmer B, editors. *Handbook of experimental pharmacology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.; 125: 135-156.
- (12) Lemmer B. and Portaluppi F. (1997) Chronopharmacology of cardiovascular diseases. In: Redfern P, Lemmer B,

- editors. Handbook of experimental pharmacology. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.; 125: 251-297.
- (13) Hermida R.C., Ayala D.E., Calvo C., Portaluppi F., Smolensky M.H. (2007) Chronotherapy of hypertension: Administration-time-dependent effects of treatment on the circadian pattern of blood pressure. *ADDR*. 59: 923-939.
- (14) Kashuba A.D.M and Nafziger A. (1998) Physiological changes during the menstrual cycle and their effects on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Clin Pharmacokinet*. 34: 203-218.
- (15a) Flórez J. y Sallés J. (2008) Acciones de los fármacos II: Dianas y mecanismos moleculares. En *Farmacología Humana*. 5° Ed. Director Jesús Flórez. Elsevier. España. 19-56.
- (15b) Hurlé M.A., Monti J. Flórez J. (2008) Fármacos ansiolíticos y sedantes. En *Farmacología Humana*. 5° Ed. Director Jesús Flórez. Elsevier. España. 543-566.
- (16) Kalapura T. and Ventura H.O. (2003). Beta-blocker therapy and severe heart failure: Myth or reality? *Congestive Heart Failure*. 9: 197-202.
- (17) Mills S.E. (2002) Implications of feedback regulation of beta-adrenergic signaling. *J. Anim.Sci* 80 (E. Suppl. 1) E30-E35.
- (18) Dzimri N. (1999) Regulation of β -adrenoreceptor signaling in cardiac function and disease". *Pharmacol. Rev*. 51:465-502.
- (19) S.S and Shen H. (2009) Neuroactive steroids and the GABAA receptor. *Hormones, Brain and Behavior* (Second Edition). 47:1561-1580.
- (20) Belelli D. and Lambert J.J. (2005) Neurosteroids: Endogenous regulators of the GABAA Receptor. *Nature Reviews/ Neuroscience*. 6: 565-575.
- (21) Reddy D.S. (2009) The Role of neurosteroids in the pathophysiology and treatment of catamenial epilepsy". *Epilepsy Research*. 85: 1-30.
- (22) Herzog A.G. (2008) Catamenial epilepsy: Definition, prevalence, pathophysiology and treatment. *Seizure*. 17: 151-159.
- (23) Reddy D.S. (2009) Steroid hormones and sex differences in seizure susceptibility. *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research*: 526-533.
- (24) Minichiello L. (2009) TrkB signalling pathways in LTP and learning. *Nature Reviews Neuroscience*.10: 850-860.
- (25) Pack A.M., Reddy D.S, Duncan S., Herzog A. (2011) Neuroendocrinological aspects of epilepsy: Important issues and trends in future research. *Epilepsy & Behavior*. 22: 94-102.
- (26) BM Stell B.M , Brickley S.G, Tang C.Y, Farrant M, Mody I. (2003) Neuroactive steroids reduce neuronal excitability by selectively enhancing tonic inhibition mediated by δ subunit-containing GABAA receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci.*(24):14439-44.
- (27) Frye Ch. A. (2008) Hormonal influences on seizures: Basic neurobiology. *International Review of Neurobiology*. 83:27-77

JUAN CLAUDIO SANAHUJA (1921-2012)

María Luz Pita Martín de Portela

La Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica y la Sociedad Latinoamericana de Nutrición participan con profundo pesar el fallecimiento del Dr Juan Claudio Sanahuja, acaecido en su casa de Buenos Aires el 31 de enero del 2012.

El Dr. Juan Claudio Sanahuja nació en Buenos Aires (Argentina) el 21/09/1921. Realizó sus estudios universitarios en la entonces Escuela de Farmacia y Bioquímica, dependiente de la Facultad de Ciencias Médicas, en la que desde su comienzo la Bromatología figuraba como parte de los planes de estudio. Alcanzando los Títulos de Farmacéutico, Bioquímico y Dr en Bioquímica y Farmacia y trabajó como docente e investigador en la Cátedra de Bromatología, a cargo del Dr. Colobraró.

Fue Becado por CONICET para realizar estudios de Nutrición en Wisconsin (EE.UU.) bajo la dirección del Dr A Harper, siendo autor de trabajos publicados en revistas internacionales acerca del desequilibrio de a.a. y desnutrición Proteico-Calórica.

Regresó a Buenos Aires cuando la Escuela de Farmacia y Bioquímica se había constituido en Facultad, en la cual se hizo cargo de la Cátedra de Bromatología, que era dependiente del Dto. de Química Biológica. Como Profesor Titular de Bromatología, gestionó la creación del Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental, que se concretó en 1964. Ejerció la dirección del nuevo Departamento donde se constituyeron en forma independiente las Cátedras de Bromatología y la de Nutrición con su cuerpo propio de Profesores y personal docente, incorporando la asignatura Nutrición en los planes de estudio de Farmacia y de Bioquímica. Dirigió numerosas Tesis doctorales del cuerpo docente que luego continuó su trayectoria en el país y en el exterior.

La Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA, por su iniciativa fue la primera en el país que incluyó Nutrición en los planes de estudio de las Carreras de Farmacia y de Bioquímica, así como las Residencias Bioquímicas en Nutrición y en Bromatología. y la prestación de servicios en Nutrición y Bromatología.

Fue Decano de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (1979-83) consolidando los grupos académicos orientados al desarrollo técnico.

Tuvo la visión de la importancia de la Nutrición en la Tecnología de Alimentos y logró la creación de la Licenciatura en Industria Alimentaria, como especialización de postgrado. Dicha carrera fue sustituida en 1994, por la actual Maestría en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de los Alimentos, carrera compartida con la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA.

Fue socio emérito y fundador de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), creada en 1964, ejerciendo su Presidencia en 1981-1982. En ese marco se creó, como órgano oficial, la revista que hoy es Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN). Participó activamente en los foros académicos de la Región involucrados con la salud y la nutrición de las poblaciones de nuestro sub-continente, desde aspectos relacionados con la producción de alimentos, su tecnología, hasta la clínica y la epidemiología nutricional, incluyendo aspectos de salud pública.

Fue Miembro del Directorio de CONICET (PK) (1980-83) y Miembro de New York Academy of Sciences de EE.UU.

Recibió Premios a trabajos sobre Proteínas y Aminoácidos en Nutrición, sobre Bromatología y el Premio Konex 1983: Bromatología, Nutrición y Tecnología de los Alimentos

La Facultad de Farmacia y Bioquímica le debe el Inicio de las líneas de Investigación de las Cátedras de Bromatología y de Nutrición que tienen continuidad y siguen llevándose a cabo en el ámbito de la UBA y de otras Universidades Nacionales.

Se incorporó como miembro de número de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica, siendo Presidente en el período 2002– 2004. Desde la Academia promovió la importancia de las Academias Nacionales y fue designado Miembro de la Academia Real de Madrid, de Cataluña, Chile y Perú y Presidente de Honor de las Academias Iberoamericanas de Farmacia.

ELOY LORENZO MANDRILE (1931-2012)

Néstor O. Caffini

El primer día de junio del corriente año dejó de acompañarnos el Dr. Eloy Lorenzo Mandrile, miembro ilustre de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica, a la que había ingresado muy tempranamente, ya que en septiembre de 1979 fue incorporado como Académico de Número, ocupando el Sitial 4, correspondiente a Fitoquímica, de la entonces Sección Ciencias Naturales y Farmacología. En varias oportunidades ocupó cargos en el Consejo Directivo, llegando a desempeñarse como Vicepresidente durante los años 1987 a 1989 y nuevamente entre 1993 y 1995, habiendo alcanzado la Presidencia de la entidad en el período 1991-1993. Corresponde destacar que la Real Academia de Farmacia del Instituto de España lo distinguió en el año 1992 como Académico Correspondiente, por designación unánime de la Junta de Gobierno y de la Real Corporación.

Oriundo de la Provincia de la Pampa (había nacido el 3 de abril de 1931 en la localidad de Eduardo Castex), Eloy Mandrile realizó sus estudios universitarios en la Universidad Nacional de La Plata, donde obtuvo su título de Farmacéutico en 1959 y el de Bioquímico en 1960, doctorándose en 1964 bajo la dirección del entonces titular de la cátedra de Farmacognosia, el Prof. Raúl Nico. Esta temprana relación con la química de las plantas está marcada por el primer curso de posgrado al que asistió, realizado en 1963 en la cátedra de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, dictado por la Profesora Marie Thérèse François de la Universidad de Nancy, Francia, sobre Materia Médica y Farmacognosia. A lo largo de su carrera académica realizó numerosos cursos sobre temas farmacéuticos y bioquímicos, pero algo digno de destacarse es que en 1972 recibió el premio "Ciencia e Industria" otorgado por la Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires por su trabajo "*Dryopteris paralellograma como sustituto de Aspidium filix-mas*" (el conocido "helecho macho" que se utilizaba como antihelmíntico). Su carrera docente se inicia en 1957 en la actual Facultad de Ciencias Exactas (entonces Química y Farmacia) de la Universidad Nacional de La Plata, en la asignatura Química Orgánica II, pero al cabo de un año ya integra como Ayudante Alumno el plantel docente de la que sería "su" cátedra, la cátedra de Farmacognosia, más allá de un desempeño transitorio y simultáneo en las Cátedras de Semiología y de Química Biológica y luego en el Instituto de Fisiología de la actual Facultad de Ciencias Médicas de la misma Universidad. Ya en 1970 es Profesor Adjunto de Farmacognosia y diez años más tarde alcanza el cargo de Profesor Titular, que ejerció hasta su retiro.

Su participación en la vida universitaria se inició tempranamente, comenzando por su designación como Miembro Titular electo, en representación del Claustro de Estudiantes de la Facultad de Química y Farmacia ante la Asamblea de la Universidad Nacional de La Plata celebrada en 1959. Ya como profesor fue sucesivamente Miembro del Consejo Asesor del Departamento de Farmacología, Consejero Titular por el Claustro de Profesores en el Primer Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Exactas al retornar el país a la democracia en 1983, Consejero Profesor en el Departamento de Ciencias Biológicas durante varias oportunidades y finalmente Jefe de dicho Departamento por dos períodos.

En el plano académico-científico su actividad fue intensa, pero un hecho digno de destacarse es que a partir del año 1991 realizó numerosos aportes bibliográficos por intermedio del Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires, en lo que seguramente constituye uno de los mayores aportes seriados realizados en el campo de la Fito-farmacia en el país. Esa institución profesional lo contó como Asesor y luego como Director de su Departamento Científico, donde se desempeñó hasta hace pocos años atrás. No menos importante fue su labor como editor, ya que además de haberse desempeñado como director de Revista Farmacéutica, fue el fundador y Editor de Acta Farmacéutica Bonaerense durante sus primeros diez años, actualmente denominada Latin American Journal of Pharmacy, convertida en este momento en una de la más prestigiosas publicaciones científicas de Latinoamérica en el ámbito de

las Ciencias Farmacéuticas. Por otra parte, sus antecedentes también le valieron integrar desde hace varios años la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, en carácter de vocal, distinción que compartió con otros integrantes de nuestra corporación académica y que ejerció hasta el momento de su desaparición física.

El pasado 26 de julio la Academia despidió a uno de sus miembros dilectos. En esa oportunidad se destacó que, más allá de los merecimientos científicos de Eloy Mandrile, todos los integrantes de esta corporación académica sentíamos que habíamos perdido a quien durante años nos había brindado su amistad y su afecto, destacando esencialmente sus condiciones de hombre de bien, generoso y solidario. Por ello, quienes estuvimos presentes en ese emotivo homenaje a su memoria nos hacemos partícipes de las palabras pronunciadas por el académico que tuvo a su cargo la despedida: “Adiós Eloy, querido amigo, siempre estarás presente en nuestros corazones”.

ALEJANDRO C. PALADINI

Juan Pablo Rossi

El 14 de setiembre murió en Buenos Aires Alejandro C. Paladini a los 93 años. Profesor Emérito de la Universidad de Buenos Aires e Investigador Emérito del CONICET. Se había graduado de Farmacéutico y de Bioquímico en la Universidad de Buenos Aires con medalla de oro por sus calificaciones. Hizo su trabajo de tesis con el profesor Julio J. Rossignoli sobre la medida de la tensión superficial.

Fue el primer becario de la Fundación Campomar y bajo la dirección de Luis F. Leloir le tocó participar junto a Cardini, Caputo, Trucco y Cabib de los primeros estudios que culminaron en el Premio Nobel de Leloir. Becado por la Rockefeller Foundation viajó a New York donde estudió con Lemman Craig y los premios Nobel Moore y Stein. Como decía el Dr. Leloir "En 1956, luego de su estadía en el exterior se interesó en la purificación de la angiotensina, al parecer atraído por la personalidad de Eduardo Braun Menéndez, que trabajaba al lado de nosotros en el Instituto de Biología y Medicina Experimental. Este alejamiento de Paladini de nuestro grupo me causó gran aflicción puesto que era un gran colaborador y nuestro tema de trabajo prometía muchos éxitos, ya que habíamos dado con una veta fértil".

Al año siguiente asumió como Profesor Titular de Matemáticas en Farmacia y Bioquímica. La creación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica en 1957, en base a la entonces Escuela de la Facultad de Ciencias Médicas, permitió a Paladini iniciar el periodo de sus mayores logros académicos e institucionales. Separó la carrera de Farmacia de la de Bioquímica, las dotó de planes de estudio con nuevas disciplinas y un moderno sistema de correlatividades, agrupó las cátedras en departamentos, promovió la dedicación exclusiva de los profesores y su actividad de investigación científica, acciones estas que renovaron y modernizaron las actividades de la Facultad. Simultáneamente pasó a ser Profesor Titular de Química Biológica donde modificó radicalmente la enseñanza poniendo énfasis en la actividad química de la materia viva. Además convocó a científicos y formó colaboradores que introdujeron en Argentina las técnicas para el estudio de las proteínas, moléculas que por su complejidad requieren de una especialización y experticia presente en contados laboratorios del mundo. Era la primera vez que un proyecto como ese se encaraba en Sudamérica. El laboratorio dilucidó la composición en aminoácidos y la estructura de la hormona de crecimiento bovina.

En 1982 fundó el Instituto de Química y Físicoquímica Biológica, con sede en la Facultad de Farmacia y Bioquímica patrocinado conjuntamente por la Universidad de Buenos Aires y el CONICET, y del cual fue director durante 20 años.

Numerosas instituciones reconocieron los méritos académicos de Paladini: miembro Titular de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica, de la de Medicina, de la de Ciencias de Buenos Aires, de la de Ciencias de Córdoba, de la de Ciencias del Tercer Mundo, Premio Facultad de Ciencias Médicas por su tesis doctoral, Premio Fundación Bunge y Born de Ciencias Químicas, Presidente de la Sociedad Argentina de Investigación Bioquímica y Presidente de la Pan-American Asociación of Biochemical Societies, entre otras.

La búsqueda de la calidad académica fue el objetivo de su vida. Sin duda el mejor profesor, el Maestro de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Dejó huella, orientación y sentido. Si los jóvenes siguieran su legado, la contribución de Argentina al conocimiento estaría garantizada.

COOPERARON PARA LA EDICIÓN DE ESTE VOLUMEN 2012

MINISTERIO DE CIENCIA TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN PRODUCTIVA

Laboratorios **ABBOTT S.A**

Laboratorios **BAGO S.A**

Laboratorios **BRITANIA S.A**

CÁMARA ARGENTINA DE ESPECIALIDADES MEDICINALES (CÁEME)

Laboratorio **CASASCO S.A**

CONFEDERACIÓN FARMACÉUTICA ARGENTINA (COFA)

COLEGIO DE FARMACÉUTICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA CAPITAL FEDERAL

COLEGIO DE FARMACÉUTICOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Laboratorio **MONSERRAT Y ECLAIR**

Laboratorio **ROEMMERS**

Laboratorio **ROUX OCEFA**

ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA INDUSTRIAL (SAFYBI)

Laboratorios **WIENER S.A**

FUNDACIÓN RENE BARON

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”