

revista del
Comité
Científico de la aesan

Nº 17

agencia española de seguridad alimentaria y nutrición
agencia española de seguridad alimentaria y nutrición



Revista del Comité Científico de la AESAN

Madrid, 2013

revista del
Comité
Científico de la aesan

Nº 17

Nota del Comité Editorial

Los informes que se incluyen a continuación son el resultado de las consultas que la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y otras instituciones hacen al Comité Científico. Esta revista y sus informes se presentan conforme a normas de presentación

y publicación de bibliografía científica internacionalmente aceptadas. De ello se deriva, entre otras, la necesidad de abordar su estudio e interpretación desde la consideración ineludible de las citas bibliográficas referenciadas en el texto y enumeradas en el apartado "Referen-

cias" que incluye al final de los informes. Lo contrario, además de dificultar su comprensión integral, pudiera llevar a extraer conclusiones parciales o equivocadas, divergentes del informe en su conjunto.

Consejo Editorial Científico

Presidente del Comité Científico

Emilio Martínez de Victoria Muñoz

Vicepresidente del Comité Científico

Antonio Martínez López

José Manuel Barat Baviera

María Antonia Ferrús Pérez

Guillermina Font Pérez

Arturo Hardisson de la Torre

Antonio Herrera Marteache

Félix Lorente Toledano

Ascensión Marcos Sánchez

Amelia Marti del Moral

María Rosario Martín de Santos

María Rosa Martínez Larrañaga

Cristina Nerín de la Puerta

Gaspar Pérez Martínez

Catalina Picó Segura

Rosa María Pintó Solé

Antonio Pla Martínez

José Luis Ríos Cañavate

Jordi Salas Salvadó

Jesús Simal Gándara

Coordinadores de la edición

Ricardo López Rodríguez

Marta Pérez González

Vicente Calderón Pascual

Edita

AESAN

Alcalá, 56. 28071. Madrid

Correo electrónico: uccaesan@mssi.es

Diseño y maquetación

Montserrat Gómez

NIPO: 682-13-002-X

ISSN: 1885-6586

Índice

Prólogo	9
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre condiciones de uso de determinadas sustancias distintas de vitaminas, minerales y plantas para ser empleadas en complementos alimenticios - 1	11
Colaboración	
Análisis de residuos de fenilbutazona en músculo de caballo	235

Estimados lectores y lectoras, como Presidente del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) quiero presentarles este nuevo número de la Revista del Comité Científico, el órgano de publicación de los trabajos de este Comité. Antes de hablar de los temas que se incluyen en este número quisiera agradecer a todos mis compañeros y a los asesores y técnicos de la AESAN su excelente trabajo para que esta revista se edite con los informes generados tras exhaustivos trabajos de recopilación de información, análisis y discusión de los temas incluidos. De igual forma, quiero expresar el agradecimiento de todos los que formamos parte de este órgano consultor de la AESAN, a la Presidenta, a la Directora Ejecutiva y a todo el personal de la Agencia por su confianza e inestimable ayuda en nuestras tareas. También, y en un momento de renovación parcial del Comité, recordar y agradecer a los miembros que se han ido por su trabajo y compañerismo.

Este número de la revista se dedica casi en su totalidad al Informe del Comité Científico de la AESAN sobre condiciones de uso de determinadas sustancias distintas de vitaminas, minerales y plantas para ser empleadas en complementos alimenticios. Actualmente, el Real Decreto 1487/2009 sólo contempla vitaminas y minerales entre las sustancias autorizadas para la fabricación de los complementos alimenticios en España. Sin embargo, en él se indica que pueden regularse en una fase posterior, y una vez que se disponga de datos científicos adecuados, las normas específicas relativas a otros nutrientes e ingredientes utilizados en los complementos alimenticios tales como aminoácidos o ácidos grasos esenciales.

La falta de regulación relativa a la fabricación en España de complementos alimenticios que contengan sustancias distintas de vitaminas y minerales impide su fabricación a nivel nacional, pero no su comercialización a través de la autorización obtenida en otro Estado miembro y el correspondiente reconocimiento mutuo. Ello supone, además de una desventaja competitiva para las empresas españolas, que no se cuente con un instrumento legal que facilite que, en caso de discrepancia con la regulación de otro Estado miembro, se pueda proteger al consumidor utilizando un instrumento legal apropiado.

Por todo ello, la Dirección Ejecutiva de la AESAN solicitó al Comité Científico que realizara una valoración de la propuesta de autorización de la utilización de determinadas sustancias distintas de vitaminas y minerales en la fabricación de complementos alimenticios tanto en lo referido a las cantidades máximas diarias propuestas como en cuanto a la pertinencia de su autorización. Debemos destacar que esta valoración se limita única y exclusivamente a los aspectos de seguridad alimentaria de estas sustancias, independientemente de sus aspectos nutricionales o sus propiedades saludables. Estos aspectos ya están recogidos en la legislación Europea y es la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) la encargada de valorar los aspectos nutricionales y de salud.

Las sustancias analizadas se encuadran en los siguientes grupos: ácidos grasos, aminoácidos y otros compuestos nitrogenados, dipéptidos y péptidos, enzimas, flavonoides y carotenoides, nucleótidos, polisacáridos y oligosacáridos y otras sustancias. En ellos se incluyen sustancias como coenzima Q10, creatina, condroitina, chitosán, licopeno, taurina, aminoácidos ramificados, etc.

Para la elaboración de este informe se han tenido en cuenta informes elaborados por otras Agencias y otros trabajos publicados posteriormente o que se refieren a datos existentes en España.

Creemos que este informe, una vez aprobado por los órganos correspondientes, permitirá la introducción de un nuevo Anexo en el Real Decreto 1487/2009 y, sin duda, aportará una valiosa información acerca del uso correcto de estos complementos alimenticios bajo el prisma de la seguridad alimentaria.

En este número se incluye una nueva colaboración procedente del Centro Nacional de Alimentación en relación al análisis de residuos de fenilbutazona en carne de caballo que corrobora la rápida actuación de los laboratorios de referencia y de control oficial para dar respuesta a los retos que se van presentando en el ámbito de la seguridad alimentaria.

De nuevo agradecerles a todos los lectores de la revista su interés por los trabajos del Comité Científico y esperamos que puedan serles de utilidad en sus tareas profesionales y en su formación en Alimentación y Nutrición.

Emilio Martínez de Victoria Muñoz
Presidente del Comité Científico de la AESAN

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre condiciones de uso de determinadas sustancias distintas de vitaminas, minerales y plantas para ser empleadas en complementos alimenticios - 1

Miembros del Comité Científico

Rosaura Farré Rovira, Francisco Martín Bermudo, Ana María Cameán Fernández, Alberto Cepeda Sáez, Mariano Domingo Álvarez, Antonio Herrera Marteache, Félix Lorente Toledano, María Rosario Martín de Santos, Emilio Martínez de Victoria Muñoz, M^º Rosa Martínez Larrañaga, Antonio Martínez López, Cristina Nerín de la Puerta, Teresa Ortega Hernández-Agero, Perfecto Paseiro Losada, Catalina Picó Segura, Rosa María Pintó Solé, Antonio Pla Martínez, Daniel Ramón Vidal, Jordi Salas Salvadó, M^º Carmen Vidal Carou

Secretario Técnico

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AESAN-2012-008

Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 28 de noviembre de 2012

Grupo de Trabajo

Rosaura Farré Rovira (Coordinadora)
Francisco Martín Bermudo (Coordinación aminoácidos)
Emilio Martínez de Victoria Muñoz (Coor. enzimas y nucleótidos)
M^º Rosa Martínez Larrañaga (Coordinación otras sustancias)
Teresa Ortega Hernández-Agero (Coor. flavonoides y carotenoides)
Catalina Picó Segura (Coordinación ácidos grasos)
Jordi Salas Salvadó (Coordinación polisacáridos y oligosacáridos)
M^º Carmen Vidal Carou (Coordinación péptidos y dipéptidos)
Alberto Cepeda Sáez, Perfecto Paseiro Losada, Antonio Pla Martínez, Ángel Gil Hernandez (Colaborador externo)
Concepción Becerril Moral (AESAN)

Resumen

Los complementos alimenticios son alimentos cuyo fin es complementar la dieta normal y que consisten en fuentes concentradas de nutrientes (vitaminas y minerales) o de otras sustancias que tienen un efecto nutricional o fisiológico, en forma simple o combinada. Los complementos se comercializan en forma dosificable y, en ningún caso, deben sustituir al uso de medicamentos sin una supervisión médica adecuada. Sólo deben utilizarse para complementar la dieta y, de forma general, su uso no es necesario si se sigue una dieta variada y equilibrada, a la que no pueden reemplazar.

En España los complementos alimenticios están regulados por el Real Decreto 1487/2009 que traspuso a la legislación española la Directiva 2002/46/CE relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de complementos alimenticios. Sin embargo, actualmente sólo está regulado el uso de vitaminas y minerales, por lo que se ha solicitado al Comité Científico que realice una valoración de la propuesta de autorización de la utilización de determinadas sustancias distintas de vitaminas y minerales en la fabricación de complementos alimenticios.

Las 49 sustancias propuestas por la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) pertenecen a distintos grupos: ácidos grasos, aminoácidos, péptidos, enzimas, flavonoides, carotenoides, nucleótidos, polisacáridos, oligosacáridos y otros.

El Comité Científico ha valorado cada propuesta, analizando las características y fuentes de cada sustancia, así como la nutrición, metabolismo y seguridad y ha concluido, en cada caso, si la presentada por la AESAN era aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio. En ningún caso, la evaluación realizada supone un aval de la eficacia de las sustancias y dosis valoradas.

Palabras clave

Complementos alimenticios, ácidos grasos, aminoácidos, péptidos, enzimas, flavonoides, carotenoides, nucleótidos, polisacáridos, oligosacáridos.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the use conditions for certain substances other than vitamins, minerals and plants in food supplements - 1.

Abstract

Food supplements are foods whose purpose is to supplement the normal diet and which consist of concentrated sources of nutrients (vitamins and minerals) or other substances with a nutritional or physiological effect, alone or in combination. The supplements are marketed in dose form and, in no event, should they replace the use of medication without suitable medical supervision. They should only be used to supplement the diet and, on the whole, their usage is not required if the individual has a varied and balanced diet, which cannot be replaced.

In Spain, food supplements are regulated by Royal Decree 1487/2009, which transposed Directive 2002/46/EC on the approximation of the laws of the Member States relating to food supplements into Spanish law. However, only the use of vitamins and minerals is currently regulated. Therefore the Scientific Committee has been asked to make an assessment of the proposal to authorise certain substances other than vitamins and minerals in the manufacture of food supplements.

The 49 substances proposed by the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) belong to different groups: fatty acids, amino acids, peptides, enzymes, flavonoids, carotenoids, nucleotides, polysaccharides, oligosaccharides and others.

The Scientific Committee has assessed each proposal, analysing the characteristics and sources of each substance, and the nutrition, metabolism and safety and has concluded, in each case, whether that submitted by the AESAN is acceptable from a safety viewpoint for use as a food supplement. In no event is the assessment intended as a guarantee of the efficiency of the substances and the estimated doses.

Key words

Food supplements, fatty acids, amino acids, peptides, enzymes, flavonoids, carotenoids, nucleotides, polysaccharides, oligosaccharides.

Abreviaturas

AI: Ingesta Adecuada (*Adequate Intake*).

AR: Requerimiento Medio (*Average Requirement*).

DL₅₀: Dosis Letal 50.

DRI: Ingestas Dietéticas de Referencia (*Dietary Reference Intakes*).

EAR: Requerimiento Medio Estimado (*Estimated Average Requirements*).

GRAS: Reconocida Generalmente como Segura (*Generally Recognized as Safe*).

HOI: Mayor Ingesta Observada (*Highest Observed Intake*).

IDA: Ingesta Diaria Admisible.

LOAEL: Nivel de Efecto Adverso más bajo Observado (*Lowest Observed Adverse Effect Level*).

NDA: Productos Dietéticos, Nutrición y Alergias (*Dietetic Products, Nutrition and Allergies*).

NOAEL: Nivel sin Efecto Adverso Observado (*No Observed Adverse Effect Level*).

NOEL: Nivel sin Efecto Observable (*No Observed Effect Level*).

OSL: Nivel de Seguridad Observado (*Observed Safe Level*).

p.c.: peso corporal.

RDA: Aporte Dietético Recomendado (*Recommended Dietary Allowances*).

UF: Factor de incertidumbre (*Uncertainty Factor*).

UL: Nivel de ingesta máxima tolerable (*Upper Level*).

ULS: Nivel máximo de ingesta tolerable de los suplementos (*Safe Upper Level for Supplements*).

1. Introducción

Los complementos alimenticios son alimentos cuyo fin es complementar la dieta normal y que consisten en fuentes concentradas de nutrientes (vitaminas y minerales) o de otras sustancias que tienen un efecto nutricional o fisiológico, en forma simple o combinada. Los complementos se comercializan en forma dosificable en cápsulas, pastillas, tabletas, píldoras, bolsas con polvo, ampollas de líquido, botellas con cuentagotas y otras formas similares de líquidos y polvos que deben tomarse en pequeñas cantidades unitarias.

Como alimentos, están sometidos a la legislación aplicable al resto de productos alimenticios tales como el Reglamento (CE) N° 178/2002 (UE, 2002a) que fija procedimientos que influyen en la seguridad alimentaria, el Reglamento (CE) N° 1924/2006 (UE, 2006a) sobre declaraciones de propiedades nutricionales y saludables y el Reglamento (CE) N° 258/1997 (UE, 1997) sobre nuevos alimentos. No requieren una autorización previa para su comercialización sino una notificación de puesta en el mercado, aunque en algunos Estados miembros de la Unión Europea como Austria, Holanda, Suecia o el Reino Unido la notificación no es obligatoria (FVO, 2011).

El Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios (BOE, 2009) traspuso a la legislación española la Directiva 2002/46/CE (UE, 2002b) relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de complementos alimenticios y estableció, entre otras cuestiones, los requisitos para la comercialización de complementos alimenticios, incluyendo su etiquetado, presentación y publicidad. Asimismo, determina en su anexo I las vitaminas y minerales que pueden utilizarse en la fabricación de los complementos alimenticios, especificando en su anexo II las sustancias o sales que pueden utilizarse como fuentes de vitaminas y minerales para que dichos nutrientes estén disponibles para el organismo.

Con respecto a las sustancias distintas de vitaminas y minerales, en el preámbulo del Real Decreto 1487/2009 se establece que hasta que no se fijen en la Unión Europea niveles máximos de nutrientes u otras sustancias con efecto nutricional o fisiológico, a efectos de los complementos alimenticios, se tendrán en cuenta los informes pertinentes del Comité Científico sobre la Alimentación Humana (SCF) y de otros organismos internacionales de reconocida solvencia científica.

Además, en el preámbulo de la Directiva 2002/46/CE, se indica que en la fabricación de los complementos alimenticios pueden emplearse las sustancias que hayan sido aprobadas por el Comité Científico sobre la Alimentación Humana, sobre la base de los criterios mencionados, para su utilización en la fabricación de alimentos destinados a lactantes y a niños de corta edad y otros alimentos para usos nutricionales particulares.

A este respecto, el Reglamento (CE) N° 953/2009 (UE, 2009) establece las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial y la Directiva 2006/141/CE (UE, 2006b) relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y su transposición en España a través del Real Decreto 867/2008 (BOE, 2008) regula la inclusión de determinadas sustancias en la composición básica de los preparados para lactantes.

Actualmente, el Real Decreto 1487/2009 sólo contempla vitaminas y minerales entre las sustancias autorizadas para la fabricación de los complementos alimenticios en España. Sin embargo, en él se indica que pueden regularse en una fase posterior, y una vez que se disponga de datos científicos adecuados,

las normas específicas relativas a otros nutrientes e ingredientes utilizados en los complementos alimenticios tales como aminoácidos o ácidos grasos esenciales.

Por el momento, la Comisión Europea no tiene previsto regular la utilización de otras sustancias distintas de vitaminas y minerales en los complementos alimenticios por lo que algunos Estados miembros, entre los que se encuentran Bélgica, Dinamarca o Italia, aplican disposiciones anteriores a la Directiva 2002/46/CE o han elaborado disposiciones nacionales con posterioridad. También existen informes de evaluación de la seguridad de determinadas sustancias elaborados por organismos evaluadores nacionales, como es el caso de Francia, o de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

Por otra parte, la aprobación de una declaración de propiedades saludables para una determinada sustancia en el marco del Reglamento (CE) N° 1924/2006 no supone un aval de su seguridad puesto que EFSA únicamente valora la relación causa efecto entre la ingesta de una determinada cantidad de una sustancia y el efecto que se pretende alegar. Por ello, la autorización de una declaración de propiedades saludables no implica que se haya evaluado su seguridad y, tal como se indica en el Reglamento por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños (artículo 13.1), esta autorización de una declaración no constituye una autorización de comercialización de la sustancia a la que concierne la declaración, ni una decisión sobre la posibilidad de utilizar la sustancia en productos alimenticios ni la clasificación de un determinado producto como alimento (UE, 2012).

Actualmente, en España es posible comercializar complementos alimenticios que contengan sustancias autorizadas en otros Estados miembros por el principio de reconocimiento mutuo en la Unión Europea, que garantiza la libre circulación de mercancías y servicios sin que sea necesario armonizar las legislaciones nacionales de los Estados miembros. Así pues, la venta de un producto fabricado legalmente en un Estado miembro no puede estar prohibida en otro Estado miembro, aunque las condiciones técnicas o cualitativas difieran de las impuestas a los propios productos. La única excepción se produce en casos de interés general tales como la protección de la salud, los consumidores o el medio ambiente y es el caso de los complementos alimenticios que son considerados medicamentos por la autoridad competente de un Estado miembro y que, por tanto, no pueden ser comercializados como complemento alimenticio aunque tengan esa consideración en otro Estado miembro.

La falta de regulación relativa a la fabricación en España de complementos alimenticios que contengan sustancias distintas de vitaminas y minerales impide su fabricación a nivel nacional, pero no su comercialización a través de la autorización obtenida en otro Estado miembro y el correspondiente reconocimiento mutuo. Ello supone, además de una desventaja competitiva para las empresas españolas, que no se cuente con un instrumento legal que facilite que, en caso de discrepancia con la regulación de otro Estado miembro, se pueda proteger al consumidor utilizando un instrumento legal apropiado.

La Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha elaborado una propuesta de autorización de determinadas sustancias distintas de vitaminas y minerales para ser utilizadas en la fabricación de complementos alimenticios y sus correspondientes cantidades máximas diarias de cara a su inclusión en un nuevo anexo III del Real Decreto 1487/2009. Para ello se ha basado en distintas fuentes documentales tales como la autorización existente en otros Estados miembros, la reglamentación sobre

sustancias que pueden añadirse con fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial y en informes de distintos organismos evaluadores europeos.

Por todo ello, la Dirección Ejecutiva de la AESAN ha solicitado al Comité Científico que realice una valoración de la propuesta de autorización de la utilización de determinadas sustancias distintas de vitaminas y minerales en la fabricación de complementos alimenticios tanto en lo referido a las cantidades máximas diarias propuestas como en cuanto a la pertinencia de su autorización.

2. Propuesta

La Subdirección General de Gestión de Riesgos Alimentarios de la AESAN ha elaborado la siguiente propuesta respecto a sustancias distintas de vitaminas y minerales que podrían ser autorizadas para su utilización en la fabricación de complementos alimenticios (Tabla 1).

Tabla 1. Sustancias y cantidades máximas propuestas por la AESAN para su utilización en la fabricación de complementos alimenticios

Grupo	Sustancia propuesta	Cantidad máxima diaria propuesta	Advertencia propuesta	
Ácidos grasos	Ácido araquidónico	-	-	
	Ácido linoleico y Ácido alfa-linolénico	1.000 mg de ácido alfa-linolénico. Relación linoleico/alfa-linolénico: máximo 5	-	
	Ácido oleico	-	-	
	Ácidos grasos omega-3 (DHA + EPA)	3.000 mg	-	
Aminoácidos (y sus sales de Na, K, Ca, Mg y HCl) y otros compuestos nitrogenados	Aminoácidos ramificados (L-isoleucina + L-leucina + L-valina)	Suma total 5.000 mg	No debe ser consumido por mujeres embarazadas, niños, ni durante periodos prolongados de tiempo sin control médico	
	Ácido L-glutámico	-	-	
	L-alanina	-	-	
	Beta-alanina	-	-	
	L-arginina	3.000 mg	-	
	L-carnitina	L-carnitina o clorhidrato de L-carnitina	2.000 mg	-
		Tartrato de L-carnitina	3.000 mg	-
	L-cisteína	300 mg	-	
	L-glutamina	2.000 mg	-	
	L-histidina	750 mg	-	
	L-isoleucina	1.500 mg	-	
L-leucina	2.950 mg	-		

Tabla 1. Sustancias y cantidades máximas propuestas por la AESAN para su utilización en la fabricación de complementos alimenticios

Grupo	Sustancia propuesta	Cantidad máxima diaria propuesta	Advertencia propuesta
	L-lisina	2.250 mg	-
	L-metionina + L-cisteína	Suma: máximo 1.100 mg (L-metionina: máximo 800 mg y L-cisteína máximo 300 mg)	-
	L-ornitina-alfa-cetoglutarato	2.000 mg	-
	Taurina	1.000 mg	-
	L-tirosina + L-fenilalanina	1.900 mg	-
	L-treonina	1.150 mg	-
	L-triptófano (obtenidos por hidrólisis proteica)	300 mg	Contraindicado en personas que estén siendo tratadas con antidepresivos
	L-valina	1.950 mg	-
Dipéptidos y péptidos	Glutatión	50 mg	-
	Lactoferrina	200 mg	-
Enzimas	Coenzima Q-10 o Ubiquinona	200 mg	-
Flavonoides, Carotenoides	Astaxantina de crustáceos y pescado	4 mg	-
	Licopeno	15 mg	-
	Todo <i>trans</i> Luteína/Zeaxantina	20 mg	-
	Quercetina	75 mg	No recomendado en mujeres embarazadas
	Rutina	150 mg	No recomendado en mujeres embarazadas
Nucleótidos	Adenosina 5-monofosfato y sus sales sódicas	450 mg como suma total de Adenosina, Citidina, Guanosina, Inosina y Uridina	-
	Citidina 5-monofosfato y sus sales sódicas	450 mg como suma total de Adenosina, Citidina, Guanosina, Inosina y Uridina	-
	Guanosina 5-monofosfato y sus sales sódicas	450 mg como suma total de Adenosina, Citidina, Guanosina, Inosina y Uridina	-
	Inosina 5-monofosfato y sus sales sódicas	450 mg como suma total de Adenosina, Citidina, Guanosina, Inosina y Uridina	-
	Uridina 5-monofosfato y sus sales sódicas	450 mg como suma total de Adenosina, Citidina,	-

Tabla 1. Sustancias y cantidades máximas propuestas por la AESAN para su utilización en la fabricación de complementos alimenticios

Grupo	Sustancia propuesta	Cantidad máxima diaria propuesta	Advertencia propuesta
		Guanosina, Inosina y Uridina	-
Polisacáridos y Oligosacáridos	Beta-glucanos	4.000 mg	-
	Chitosán obtenido de caparazones de crustáceos	3.000 mg	Un consumo excesivo puede causar malestar intestinal
	Fructooligosacáridos (FOS)	9 g FOS o 9 g de FOS + Inulina	Un consumo excesivo puede causar malestar intestinal
	Galactooligosacáridos (GOS)	-	-
	Glucomanano de konjac (<i>Amorphophallus konjac</i> K. Koch)	4.000 mg	No usar en alimentos deshidratados destinados a rehidratarse en el momento de la ingestión
	Goma guar	10 g	No usar en alimentos deshidratados destinados a rehidratarse en el momento de la ingestión
	Inulina	9 g Inulina o 9 g de Inulina + FOS	Un consumo excesivo puede causar malestar intestinal
	Pectinas	10 g	-
Otras sustancias	Colina (como colina, cloruro, citrato o bitartrato de colina)	1.500 mg	-
	Sulfato de condroitina	500 mg	-
	Monohidrato de creatina	3.000 mg	-
	Glucosamina (como sulfato o clorhidrato)	500 mg	-
	Hexafofato de inositol	2.000 mg	-

3. Evaluación de las propuestas

3.1 Consideraciones generales

En los complementos alimenticios, como en el resto de los alimentos, no se pueden realizar ninguna declaración de propiedades nutricionales y/o saludables que no esté aprobada conforme al Reglamento (CE) N° 1924/2006.

La valoración que realiza EFSA en el marco del Reglamento (CE) N° 1924/2006 se centra únicamente en el estudio de la relación causa-efecto entre la ingesta de una determinada sustancia y el efecto que se pretende alegar (eficacia y dosis a las que se produce el efecto) y en ningún caso supone una aprobación de dicha sustancia para su uso en el ámbito alimentario ni una evaluación de su seguridad.

Por todo esto, la solicitud de informe realizada al Comité Científico respecto a las sustancias a incluir en un nuevo anexo III sobre otras sustancias que pueden utilizarse en la fabricación de complementos alimenticios (Real Decreto 1487/2009), se limita a su seguridad a las dosis propuestas para ser utilizadas en la fabricación de complementos alimenticios, dado que la eficacia de las mismas se valora y regula a nivel europeo en el ámbito del Reglamento (CE) N° 1924/2006.

Los complementos alimenticios tienen la finalidad de complementar la dieta normal y suponen un aporte adicional de vitaminas, minerales u otras sustancias con efecto nutricional o fisiológico. La aportación de una cantidad concentrada de nutrientes u otras sustancias puede suponer un riesgo de exceso de su ingesta por parte de la población que los consume. Además, en el caso de mujeres embarazadas o lactantes, niños, ancianos y enfermos, el uso de complementos alimenticios sólo debe realizarse si existen razones que lo justifiquen ya que la evaluación de la seguridad de su uso se refiere a adultos con una situación fisiológica normal.

En ningún caso deben sustituir al uso de medicamentos sin una supervisión médica adecuada. Sólo deben utilizarse para complementar la dieta y, de forma general, su uso no es necesario si se sigue una dieta variada y equilibrada, a la que no pueden reemplazar.

Para la elaboración de este informe se han tenido en cuenta informes elaborados por otras Agencias y otros trabajos publicados posteriormente o que se refieren a datos existentes en España. Es posible que las conclusiones que se exponen deban ser revisadas en el futuro a la luz de nuevas evidencias científicas.

Referencias

- BOE (2008). Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación. BOE 131 de 30 de mayo de 2008, pp: 25.121-25.137.
- BOE (2009). Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios. BOE 244 de 9 de octubre de 2009, pp: 85.370-85.378.
- FVO (2011). Food and Veterinary Office. Report on a desk study on official controls in the field of food supplements. Health & Consumer Directorate-General. European Commission.
- UE (1997). Reglamento (CE) N° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de enero de 1997, sobre nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios. DO L 43 de 14 de febrero de 1997, pp: 1-10.
- UE (2002a). Reglamento (CE) N° 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. DO L 31 de 1 de febrero de 2002, pp: 1-24.

- UE (2002b). Directiva 2002/46/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 10 de junio de 2002, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de complementos alimenticios. DO L 183 de 12 de julio de 2002, pp: 51-57.
- UE (2006a). Reglamento (CE) N° 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. DO L 404 de 30 de diciembre de 2006, pp: 9-25.
- UE (2006b). Directiva 2006/141/CE de la Comisión, de 22 de diciembre de 2006, relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y por la que se modifica la Directiva 1999/21/CE. DO L 401 de 30 de diciembre de 2006, pp: 1-33.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269 de 14 de octubre de 2009, pp: 9-19.
- UE (2012). Reglamento (UE) N° 432/2012 de la Comisión, de 16 de mayo de 2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños. DO L 136 de 25 de mayo de 2012, pp: 1-40.

4. Ácidos grasos

4.1 Ácido araquidónico

4.1.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión del ácido araquidónico en el Real Decreto 1487/2009 sin especificar una cantidad máxima diaria. La propuesta se ha basado en la opinión científica de EFSA sobre los valores dietéticos de referencia para las grasas que afirma que no es necesario establecer un valor dietético de referencia para este ácido graso (EFSA, 2010).

En Bélgica y en Italia (propuesta legislativa) está autorizado en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Bélgica, 1992) (Italia, 2012).

4.1.2 Características y fuentes

El ácido araquidónico (ácido *cis*-5,*cis*-8,*cis*-11,*cis*-14-eicosatetraenoico) es un ácido graso poliinsaturado (PUFA) de cadena larga de la serie omega-6, constituido por una cadena de 20 carbonos con 4 dobles enlaces *cis* en las posiciones 5, 8, 11 y 14.

El ácido araquidónico (AA) está presente en cantidades bajas en la carne, huevos, pescado, algas y otras plantas acuáticas.

4.1.3 Nutrición y metabolismo

Función

En general, los PUFA de cadena larga en nuestro organismo pueden ser usados como fuente de energía, aunque tienen como destino preferente su incorporación como fosfolípidos de membrana, siendo esenciales para múltiples propiedades y funciones de las membranas biológicas, como la fluidez, la permeabilidad, la actividad de enzimas y receptores de membrana, y la transducción de señales. Además el AA, así como el ácido eicosapentaenoico (EPA), se movilizan de los fosfolípidos de membrana en respuesta a diferentes estímulos para su transformación en eicosanoides, un grupo de compuestos bioactivos que participan en la regulación de múltiples funciones fisiológicas, entre ellas la presión sanguínea, la coagulación sanguínea, la función renal, y reacciones inmunológicas e inflamatorias, y también desempeñan un papel muy importante en el sistema nervioso. En concreto, el AA es precursor de los prostanooides de la serie 2 y los leucotrienos de la serie 4 (Palou et al., 2008). Algunos de estos compuestos son proinflamatorios, vasoconstrictores, y/o proagregatorios, como la prostaglandina E_2 , el tromboxano A_2 , y el leucotrieno B_4 . Sin embargo, otros tienen propiedades antiinflamatorias y/o antiagregatorias, como la prostaciclina, lipoxina A_4 , y los ácidos epoxieicosatrienoicos (Harris et al., 2009). Los ácidos epoxieicosatrienoicos también tienen propiedades vasodilatadoras importantes. Debe destacarse que los eicosanoides producidos a partir de AA y EPA son diferentes, siendo los producidos a partir de EPA menos inflamatorios o incluso antiinflamatorios.

El AA y el EPA, como sustratos para la síntesis de eicosanoides, compiten por las mismas enzimas, y por lo tanto, las concentraciones relativas de los productos formados dependen de las concentraciones de dichos ácidos grasos en la membrana celular. Las membranas celulares contienen típicamente una alta proporción de AA y baja de EPA y DHA (ácido docosahexaenoico), y por lo tanto el AA es el sustrato dominante para la síntesis de eicosanoides. Sin embargo, una ingesta elevada de EPA y/o DHA puede inhibir la producción de eicosanoides derivados del AA (Culp et al., 1979) (Corey et al., 1983).

En nuestro organismo, el AA procede en parte de la ingesta y en parte de la síntesis endógena a partir del ácido linoleico. De hecho, el AA no se considera esencial para un adulto sano cuya dieta habitual proporciona ácido linoleico en cantidades superiores al 2,5 % de la energía de la dieta (FAO, 2010). Se ha estimado que el grado de conversión del ácido linoleico procedente de la dieta en AA es de alrededor del 0,2 %. Ahora bien, dicho proceso está altamente regulado, y depende principalmente de la ingesta de AA (Liou e Innis, 2009). Es decir, cuando el ácido linoleico es el único PUFA n-6 proporcionado por la dieta, el AA presente en los tejidos procede totalmente del ácido linoleico (Whelan et al., 1993). Cuando el consumo de AA en la dieta aumenta, la conversión de ácido linoleico en AA disminuye (Li et al., 1994). Variaciones en la ingesta de ácido linoleico (por encima de las cantidades mínimas esenciales), no alteran materialmente el contenido de AA en los tejidos, así como tampoco se ha descrito que aumenten la formación de mediadores proinflamatorios (Adam et al., 2003).

Consumo habitual

El AA representa generalmente un componente minoritario del total de PUFA ingeridos en la dieta. Se ha estimado que en la dieta occidental la ingesta de AA estaría entre 0,17 y 0,22 g/día, que es aproximadamente 100 veces inferior que la ingesta media de su precursor metabólico, el ácido linoleico (Li et al., 1994).

En España, la ingesta media de AA es de 0,34 y 0,22 g/día en hombres y mujeres, respectivamente, siendo el aporte de ácido linoleico de 17,3 y 14,6 g/día en hombres y mujeres, respectivamente (Palou et al., 2008).

Ingesta recomendada

El AA es sintetizado por nuestro organismo a partir de ácido linoleico y, por lo tanto, no sería estrictamente un ácido graso esencial a pesar de su importante papel en el mantenimiento de la integridad metabólica. En este sentido, la opinión emitida por el Panel NDA (*Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies*) de EFSA es la de establecer un valor dietético de referencia para dicho ácido graso (EFSA, 2010). Por otra parte, ya que no existe en la actualidad ninguna evidencia consistente de que la ingesta de cualquiera de los PUFA (ácidos grasos poliinsaturados) n-6 tenga efectos perjudiciales sobre la salud (por ejemplo, en la promoción de las enfermedades relacionadas con la dieta), el Panel NDA de EFSA ha propuesto no establecer unos valores máximos de ingesta (*Upper Level, UL*) para el total o cualquiera de los PUFA n-6 (EFSA, 2010).

4.1.4 Seguridad

No se han descrito efectos adversos derivados del consumo del AA.

No obstante, existe cierto debate científico sobre la conveniencia de reducir la ingesta de AA, y, en general, de PUFA n-6. Los argumentos a favor de dicha reducción se basan en que estos ácidos grasos son precursores de una amplia variedad de moléculas proinflamatorias, por tanto, una reducción de la ingesta de AA o de su precursor, el ácido linoleico, podría reducir el potencial inflamatorio y, por tanto, disminuir el riesgo de enfermedad cardiovascular (Harris et al., 2009). Sin embargo, hay que considerar que el AA se metaboliza tanto en moléculas proinflamatorias como antiinflamatorias (Harris et al., 2009), y la mayoría

de estudios que han abordado estos aspectos no han podido evidenciar que un mayor consumo de AA resulte en un incremento en la inflamación en condiciones metabólicas normales.

En concreto, estudios realizados en humanos muestran que concentraciones plasmáticas elevadas de PUFA n-6, principalmente AA, se asocian con concentraciones plasmáticas disminuidas de marcadores proinflamatorios, en particular interleucina-6 y el antagonista del receptor de la interleucina-1, y niveles superiores de marcadores antiinflamatorios, particularmente el factor de crecimiento transformante β (Ferrucci et al., 2006). En un metaanálisis de 25 estudios caso-control (incluyendo 1.998 casos y 6.913 controles) en los que se evaluó el contenido de PUFA n-6 en sangre y/o tejidos y la incidencia de eventos cardiovasculares, el contenido de ácido linoleico se asoció inversamente con el riesgo de cardiopatía coronaria, mientras que no se observó ninguna relación entre el contenido en AA y el riesgo de enfermedad coronaria (Harris et al., 2007). En relación con estos resultados, en estudios observacionales se ha asociado un mayor consumo de PUFA n-6 con niveles inalterados o inferiores de marcadores inflamatorios (Pischon et al., 2003). Por otra parte, en un estudio controlado de 7 semanas, en el que voluntarios sanos recibieron 1,5 g/día de AA (dosis equivalente a unas siete veces la ingesta habitual de dicho ácido graso) no se encontraron efectos sobre la agregación plaquetaria, los tiempos de hemorragia, el equilibrio de los metabolitos vasoactivos, los niveles de lípidos en suero o la respuesta inmune (Ferretti et al., 1997) (Kelley et al., 1997) (Nelson et al., 1997a) (Nelson et al., 1997b). Del mismo modo, en un estudio realizado en Japón, la suplementación con AA (840 mg/día durante 4 semanas) no tuvo efectos aparentes sobre ningún parámetro metabólico estudiado o la función plaquetaria (Kusumoto et al., 2007).

Asimismo, estudios realizados en células endoteliales vasculares han mostrado que los PUFA n-6 podrían tener propiedades antiinflamatorias, al suprimir la producción de moléculas de adhesión, quimiocinas, e interleucinas, todas ellas mediadoras principales del proceso aterosclerótico (De Caterina et al., 2000).

Ahora bien, debe destacarse que la suplementación con AA, aunque parece no tener efectos proinflamatorios en individuos sanos, puede contrarrestar los efectos antiinflamatorios de la suplementación con PUFA n-3 (Li et al., 1994).

4.1.5 Conclusión

Con la información disponible, el Comité Científico concluye que no hay evidencias científicas que relacionen el consumo de ácido araquidónico con el desarrollo de efectos adversos, por tanto considera que la propuesta presentada por la AESAN de no proponer una cantidad máxima es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Adam, O., Wolfram, G. y Zollner, N. (2003). Influence of dietary linoleic acid intake with different fat intakes on arachidonic acid concentrations in plasma and platelet lipids and eicosanoid biosynthesis in female volunteers. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 47, pp: 31-36.
- Bélgica (1992). Arrêté royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriments et de denrées alimentaires auxquelles des nutriments ont été ajoutés (Mon. 15. IV.1992).
- Corey, E.J., Shih, C. y Cashman, J.R. (1983). Docosahexaenoic acid is a strong inhibitor of prostaglandin but not leukotriene biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80, pp: 3.581-3.584.

- Culp, B.R., Titus, B.G. y Lands, W.E. (1979). Inhibition of prostaglandin biosynthesis by eicosapentaenoic acid. *Prostaglandins and Medicine*, 3, pp: 269-278.
- De Caterina, R., Liao, J.K. y Libby, P. (2000). Fatty acid modulation of endothelial activation. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 71, pp: 2135-2235.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *The EFSA Journal*, 8, pp: 1.461.
- FAO (2010). Food and Agriculture Organization. Fats and fatty acids in human nutrition. En libro: *Report of an expert consultation*. FAO Food and nutrition, paper 91, Rome.
- Ferretti, A., Nelson, G.J., Schmidt, P.C., Kelley, D.S., Bartolini, G. y Flanagan, V.P. (1997). Increased dietary arachidonic acid enhances the synthesis of vasoactive eicosanoids in humans. *Lipids*, 32, pp: 435-439.
- Ferrucci, L., Cherubini, A., Bandinelli, S., Bartali, B., Corsi, A., Lauretani, F., Martin, A., Andres-Lacueva, C., Senin, U. y Guralnik, J.M. (2006). Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 91, pp: 439-446.
- Harris, W.S., Mozaffarian, D., Rimm, E., Kris-Etherton, P., Rudel, L.L., Appel, L.J., Engler, M.M., Engler, M.B. y Sacks, F. (2009). Omega-6 fatty acids and risk for cardiovascular disease: a science advisory from the American Heart Association Nutrition Subcommittee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*, 119, pp: 902-907.
- Harris, W.S., Poston, W.C. y Haddock, C.K. (2007). Tissue n-3 and n-6 fatty acids and risk for coronary heart disease events. *Atherosclerosis*, 193, pp: 1-10.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiológico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 27-11-12].
- Kelley, D.S., Taylor, P.C., Nelson, G.J., Schmidt, P.C., Mackey, B.E. y Kyle, D. (1997). Effects of dietary arachidonic acid on human immune response. *Lipids*, 32, pp: 449-456.
- Kusumoto, A., Ishikura, Y., Kawashima, H., Kiso, Y., Takai, S. y Miyazaki, M. (2007). Effects of arachidonate-enriched triacylglycerol supplementation on serum fatty acids and platelet aggregation in healthy male subjects with a fish diet. *British Journal of Nutrition*, 98, pp: 626-635.
- Li, B., Birdwell, C. y Whelan, J. (1994). Antithetic relationship of dietary arachidonic acid and eicosapentaenoic acid on eicosanoid production in vivo. *The Journal of Lipid Research*, 35, pp: 1.869-1.877.
- Liou, Y. e Innis, S.M. (2009). Dietary linoleic acid has no effect on arachidonic acid, but increases n-6 eicosadienoic acid, and lowers dihomo-gamma-linolenic and eicosapentaenoic acid in plasma of adult men. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 80, pp: 201-206.
- Nelson, G.J., Schmidt, P.C., Bartolini, G., Kelley, D.S. y Kyle, D. (1997a). The effect of dietary arachidonic acid on platelet function, platelet fatty acid composition, and blood coagulation in humans. *Lipids*, 32, pp: 421-425.
- Nelson, G.J., Schmidt, P.C., Bartolini, G., Kelley, D.S., Phinney, S.D., Kyle, D., Silbermann, S. y Schaefer, E.J. (1997b). The effect of dietary arachidonic acid on plasma lipoprotein distributions, apoproteins, blood lipid levels, and tissue fatty acid composition in humans. *Lipids*, 32, pp: 427-433.
- Palou, A., Picó, C., Bonet, M.L., Serra, F., Oliver, P., Rodríguez, A.M. y Ribot, J. (2008). En libro: *El libro blanco de las grasas en alimentación funcional*. Instituto Flora, Unilever Foods S.A., Barcelona, España.
- Pischon, T., Hankinson, S.E., Hotamisligil, G.S., Rifai, N., Willett, W.C. y Rimm, E.B. (2003). Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among US men and women. *Circulation*, 108, pp: 155-160.
- Whelan, J., Surette, M.E., Hardardottir, I., Lu, G., Golemboski, K.A., Larsen, E. y Kinsella, J.E. (1993). Dietary arachidonate enhances tissue arachidonate levels and eicosanoid production in Syrian hamsters. *Journal of Nutrition*, 123, pp: 2.174-2.185.

4.2 Ácido linoleico y ácido alfa-linolénico

4.2.1 Propuesta

La AESAN propone una cantidad máxima diaria para el ácido alfa-linolénico de 1 g, con una relación ácido linoleico/ácido alfa-linolénico de un máximo de 5. Esta propuesta se basa en la evaluación realizada en Francia por AFSSA (*Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments*) para estas sustancias (AFSSA, 2008).

Además, el ácido linoleico se incluye entre las sustancias reguladas por el Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación (BOE, 2008). En él se establecen las cantidades y la proporción entre dichos ácidos grasos (no inferior a 5 ni superior a 15). En Bélgica y en Italia (propuesta legislativa) están autorizados en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Bélgica, 1992) (Italia, 2012).

4.2.2 Características y fuentes

El ácido alfa-linolénico es un ácido graso poliinsaturado esencial de la serie omega-3, que consta de 18 carbonos y 3 insaturaciones (18:3, n-3).

El ácido linoleico es un ácido graso poliinsaturado esencial de la serie omega-6, que consta de 18 carbonos y 2 insaturaciones (18:2, n-6).

En los seres humanos, la falta de las enzimas $\Delta 12$ - y $\Delta 15$ -desaturasas, que permiten la introducción de dobles enlaces en las posiciones n-6 y n-3 respectivamente, determina que estos ácidos grasos no puedan ser sintetizados y que sean por tanto esenciales, es decir que tengan que ser proporcionados por la dieta.

El ácido alfa-linolénico se encuentra fundamentalmente en el aceite de semillas vegetales, en particular en las semillas de lino, colza, cáñamo, en frutos secos (particularmente nueces), legumbres (judías, lentejas o garbanzos, entre otros) y en vegetales de hoja verde (espinacas, lechuga, etc.).

El ácido linoleico se encuentra principalmente en los aceites de girasol (que representa aproximadamente el 70 % de ácidos grasos de este aceite), cártamo, maíz, soja, onagra y calabaza. También son fuente de ácido linoleico las verduras, los frutos secos, los cereales, las semillas, los huevos y los pescados.

Alegaciones aprobadas por EFSA

Existen distintas alegaciones o declaraciones de salud aprobadas por EFSA sobre dichos ácidos grasos (algunas de ellas hacen referencia a lactantes y a niños, aunque de cara a los complementos alimenticios, nos referiremos principalmente a adultos).

Con respecto al ácido alfa-linolénico, EFSA ha aprobado la alegación sobre "contribución al desarrollo del cerebro" en niños de 3 a 6 años de edad (EFSA, 2009c). Dicha alegación se basa principalmente en un estudio en humanos y 20 estudios en animales, considerados pertinentes. El estudio en humanos (Holman et al., 1982) fue un caso de deficiencia de ácido alfa-linolénico en una niña de 6 años de edad, mantenida en condiciones de nutrición parenteral total, que contenía aceite de cártamo (carente de ácido alfa-linolénico, pero con un alto contenido de ácido linoleico) durante 5 meses. La niña desarrolló problemas neurológicos y visuales: episodios de adormecimiento/letargia, parestesia, debilidad, incapacidad para caminar, dolor en las piernas y visión borrosa. Tras cambiar a otro preparado de nutrición parenteral que

contenía aceite de soja (con un contenido adecuado de ácidos alfa-linolénico y linoleico), los síntomas neurológicos desaparecieron en pocos meses.

Basándose en este estudio en humanos y en diversos estudios en animales, el Panel consideró que existía una relación causa-efecto entre el ácido alfa-linolénico y la "contribución al desarrollo del cerebro". Sin embargo, la deficiencia en la dieta de ácido alfa-linolénico que conduce al desarrollo de daño cerebral no se ha demostrado en humanos en condiciones normales de alimentación. Las pruebas aportadas no establecen un beneficio para el desarrollo cerebral en niños con una ingesta de ácido alfa-linolénico superior a un 0,2 % de la energía total. Esta cantidad se consume como parte de una dieta equilibrada.

EFSA ha aceptado también la alegación para el ácido alfa-linolénico "el ácido alfa-linolénico, un ácido graso esencial, contribuye al desarrollo del cerebro y tejido nervioso" (EFSA, 2011). La población diana son los lactantes y niños desde el nacimiento hasta los 3 años de edad, edades a las que los complementos alimenticios no pueden ir dirigidos. Con el fin de poder llevar la alegación, las fórmulas de continuación deberán cumplir con los criterios de composición establecidas en la Directiva 2006/141/CE; otros productos alimenticios destinados a lactantes y niños deben contener un mínimo del 15 % de la ingesta adecuada del 0,5 % del total de energía de la dieta para poder llevar esta declaración (UE, 2006a).

Otra alegación aceptada por EFSA sobre el ácido alfa-linolénico es "el ácido alfa-linolénico contribuye al mantenimiento de las concentraciones normales de colesterol en la sangre" (EFSA, 2009a). La población diana es la población en general. El Panel NDA de EFSA consideró que para que el alimento pueda llevar esta alegación, debe aportar al menos un "15 % del valor propuesto de referencia de ingesta en el etiquetado de 2 g de ácido alfa-linolénico por día". Tal cantidad puede ser fácilmente consumida como parte de una dieta equilibrada. Sin embargo, el Reglamento (CE) N° 1924/2006 estableció finalmente que esta declaración sólo puede utilizarse respecto a alimentos que son, como mínimo, fuente de ácido alfa-linolénico de acuerdo con la declaración aprobada de "fuente de ácidos omega-3" que sólo se puede utilizar si el producto contiene al menos 0,3 g de ácido alfa linoléico por 100 g y 100 kcal, o al menos, 40 mg de la suma de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico por 100 g y por 100 kcal (UE, 2006b).

Con respecto al ácido linoleico, hay también una alegación aprobada por EFSA (2009b) sobre el "mantenimiento de las concentraciones normales de colesterol en sangre". El Panel NDA de EFSA consideró que para que un alimento pueda llevar dicha alegación, debe contener al menos un "15 % del valor propuesto de referencia de ingesta en el etiquetado de 10 g de ácido linoleico por día". El Panel también hizo constar que tal cantidad puede ser fácilmente consumida como parte de una dieta equilibrada. La población diana es la población en general.

4.2.3 Nutrición y metabolismo

El ácido alfa-linolénico es esencial en la nutrición humana como precursor de ácidos grasos n-3 de cadena larga. El ácido eicosapentaenoico (EPA), el ácido docosapentaenoico (DPA) y, en menor grado, el ácido docosahexaenoico (DHA) se sintetizan a partir del ácido alfa-linolénico a través de la acción secuencial de varias desaturasas y elongasas en los tejidos animales, pero no en las plantas. Las estimaciones para la conversión del ácido alfa-linolénico en EPA son del 8 al 12 %, mientras que la conversión a DHA pue-

de ser inferior al 1 % (Goyens et al., 2006). Debido a esta baja conversión y al hecho de que los ácidos alfa-linolénico, EPA y DHA pueden tener una función biológica diferente, muchas autoridades hacen recomendaciones separadas para el ácido alfa-linolénico por una parte, y para EPA y DHA por otra. El EPA es precursor de las prostaglandinas de la serie 3 y los leucotrienos de la serie 5 (Kinsella et al., 1990). El DHA es un componente de los lípidos estructurales de membrana, especialmente de los fosfolípidos en el sistema nervioso y la retina.

El ácido linoleico es también esencial, y es el precursor del ácido araquidónico. El ácido araquidónico es el precursor de prostaglandinas de la serie 2 y de leucotrienos de la serie 4 (Kinsella et al., 1990). El ácido linoleico, cuando se incorpora en las ceramidas de la piel, es esencial para mantener la barrera de permeabilidad al agua, evitando la pérdida excesiva de agua *trans-epidérmica*, con la consecuente pérdida de energía por evaporación del agua. El ácido linoleico juega también un papel en las funciones reproductora, plaquetaria, inflamatoria, inmune, y en la regulación de la lipemia.

Los ácidos linoleico y alfa-linolénico se convierten en sus respectivos ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga por las mismas enzimas. De hecho, la conversión de alfa-linolénico en EPA y DHA disminuye cuando la cantidad de ácido linoleico en la dieta se incrementa (y viceversa). Ahora bien, la conversión de ácido alfa-linolénico en sus derivados de cadena larga no depende tanto de la proporción n3/n6 sino de las cantidades absolutas de ingesta de dichos ácidos grasos. Un descenso en la ingesta de ácido linoleico determina un incremento en la proporción de ácido alfa-linolénico que se convierte en EPA. Por otra parte, un incremento en la ingesta de ácido alfa-linolénico determina un incremento en la cantidad absoluta de DHA que se sintetiza (Goyens et al., 2006). Por esta razón, algunas de las recomendaciones dietéticas también incluyen directrices para la relación n-3/n-6 en la dieta. Dicha relación, en particular entre los n-6 y n-3 esenciales, es un importante determinante para la salud; las dietas tradicionales se basaban en una relación cercana a 1, mientras que en nuestra dieta actual dicha relación es superior a 9 (Hu et al., 2001). Esta característica se ha asociado a la promoción de la patogénesis de numerosas enfermedades, entre las que se incluyen enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades inflamatorias e inmunitarias; mientras que un aumento de las concentraciones de n-3, junto con una menor ratio n-6/n-3, parece tener consecuencias inhibitorias sobre dichas enfermedades (Simopoulos, 2006). Sin embargo, no hay un consenso establecido sobre cuál debe ser la relación óptima entre ambos tipos de ácidos grasos poliinsaturados.

Consumo habitual

La ingesta media de ácidos grasos poliinsaturados en los países europeos varía considerablemente tanto en niños como en adultos. No se han observado signos manifiestos de deficiencia en los casos de consumo más bajos de ácidos grasos poliinsaturados n-3 o n-6 en niños, adolescentes o adultos en Europa. Aunque con muy poca frecuencia, y en condiciones concretas, si se ha observado deficiencia en ácidos grasos n-3 en pacientes que reciben una alimentación enteral o parenteral sin ácido alfa-linolénico (Holman et al., 1982) (Bjerve, 1989). Según el Panel NDA de EFSA tampoco hay indicios de deficiencias evidentes en las mujeres embarazadas y lactantes (EFSA, 2010).

En España no se dispone de datos individuales de ingesta de ácidos alfa-linolénico y linoleico. Hay datos de ingesta de ácidos grasos poliinsaturados totales, que representan, en adultos de 19 a 64 años, el 6,1 % de la ingesta total en varones y el 5,8 % en mujeres (EFSA, 2010).

La dieta mediterránea es relativamente rica en ácido alfa-linolénico, ya que está presente en una amplia variedad de alimentos de origen vegetal. Aunque el contenido de grasa de dichos alimentos es bajo, su relativa riqueza en ácido alfa-linolénico, junto con la ingesta relativamente elevada de vegetales, contribuye a que el aporte de este ácido sea apreciable en países con dicha dieta (Palou et al., 2008). Por ejemplo, una ración de espinacas contiene unos 475 mg de ácido alfa-linolénico, lo cual constituye cerca del 30 % de la ingesta diaria recomendada (1-2 g). Del mismo modo, una ración de 20 g de frutos secos (por ejemplo, de nueces) supone un aporte significativo de ácido alfa-linolénico, y se ha visto que este consumo mantenido durante un periodo de 3 semanas repercute en un aumento de los niveles circulantes de ácido alfa-linolénico y EPA en individuos sanos (Marangoni et al., 2007). Se ha estimado que el ácido alfa-linolénico en la dieta mediterránea puede representar, aproximadamente, del 0,6 al 1 % de la energía total diaria (o alrededor de 2 g por día) mientras que el promedio de ingesta de ácido linoleico no excede de 7 g por día (De Lorgeril y Salen, 2006).

Ingesta recomendada

La opinión del Panel NDA de EFSA (EFSA, 2010) es de que no hay suficientes datos científicos para establecer unos valores de requerimiento medio (AR), umbral mínimo de ingesta (*Lower Threshold Intake*), ni de ingesta de referencia para la población (*Population Reference Intake*). En el caso del ácido linoleico, se ha demostrado una asociación negativa (beneficiosa), dependiente de la dosis, entre la ingesta de ácido linoleico y las concentraciones de LDL-colesterol (*Low Density Lipoprotein*) en sangre, mientras que esta relación es positiva para las concentraciones de HDL-colesterol (*High Density Lipoprotein*). Además, el ácido linoleico disminuye la concentración de triglicéridos en sangre en ayunas, en comparación con los hidratos de carbono. También hay evidencia de que la sustitución de ácidos grasos saturados por la de ácidos grasos poliinsaturados n-6 (sin cambiar el consumo total de grasa) disminuye el número de eventos cardiovasculares en la población. Ahora bien, la relación entre la ingesta de ácido linoleico y el perfil de lípidos en la sangre es continua y no puede identificarse un valor umbral para la ingesta de ácido linoleico por debajo del cual el riesgo de eventos cardiovasculares aumenta. Por este motivo, el Panel propuso establecer un valor de ingesta adecuada (AI) de ácido linoleico del 4 % de la energía de la dieta, en base a los niveles de consumo más bajos de distintos grupos de población de varios países europeos en los que no se han observado síntomas manifiestos de deficiencia de ácido linoléico. Con estos mismos criterios, respecto al ácido alfa-linolénico, el Panel propuso establecer una ingesta adecuada de dicho ácido graso del 0,5 % de la energía de la dieta.

El Comité Mixto FAO/OMS de expertos sobre grasas y ácidos grasos en la nutrición humana (FAO, 2010) también concluye que una ingesta diaria de ácido alfa-linolénico entre el 0,5 y el 0,6 % del total de energía de la dieta es suficiente para prevenir los síntomas de deficiencia. El total de ácidos grasos n-3 de la ingesta puede oscilar entre el 0,5 y el 2 % del valor energético total de la dieta, mientras que el requisito dietético mínimo de ácido alfa-linolénico del 0,5 % para los adultos previene los síntomas carenciales. El valor más alto del 2 %, incluyendo el ácido alfa-linolénico, más sus derivados de cadena más larga (EPA y DHA, principalmente), puede ser parte de una dieta saludable.

Con respecto al ácido linoleico, el grupo de expertos FAO/OMS (FAO, 2010) reconoce que hay escasos datos en humanos para precisar unos requerimientos concretos de dicho ácido graso para prevenir de-

ficiencias, y concluye que es más recomendable establecer un intervalo de variación aceptable. Estudios en animales y en humanos muestran que los síntomas de deficiencia (por ejemplo, en ratas, reducción del crecimiento, descamación de la piel, cola necrótica) se previenen cuando el ácido linoleico representa entre el 1 y el 2 % del valor energético total de la dieta. Por tanto, proponen que una ingesta adecuada de ácido linoleico debe representar entre el 2 y el 3 % del valor energético total de la dieta. Si se considera que el valor superior aceptable para el total de ácidos grasos poliinsaturados y para el total de n-3 es, respectivamente, del 11 y el 2 % del total de energía de la dieta, se obtendría un intervalo aceptable para la ingesta de n-6 (en especial ácido linolénico) entre el 2,5 y el 9 % del valor energético total de la dieta. El valor inferior o valor de ingesta adecuada (AI) de 2,5 a 3,5 % permitiría la prevención de los síntomas de deficiencia, mientras que el valor más alto, como parte de una dieta saludable, contribuiría a la salud a largo plazo mediante la reducción de los niveles de LDL-colesterol y de colesterol total, y por lo tanto del riesgo de cardiopatía coronaria. Para niños de 6-24 meses de edad, se recomienda un intervalo de ingesta adecuada del 3 al 4,5 % del valor energético total de la dieta, con un valor superior aceptable de distribución de este nutriente del 10 %. También concluyen que no hay pruebas suficientes para establecer relación alguna entre el consumo de ácidos grasos poliinsaturados n-6 y el cáncer.

Finalmente, en base a las evidencias científicas existentes, el Comité de expertos FAO/OMS (FAO, 2010) también concluye que no está fundamentado realizar una recomendación específica para la relación de ácidos grasos n-6/n-3, ni para ácido linoleico/alfa-linolénico si la ingesta de dichos ácidos grasos se encuentra dentro de la recomendación establecida en el informe.

Con fines de etiquetado de alimentos, EFSA ha propuesto un valor de referencia para el alfa-linolénico de 2 g (EFSA, 2009d). Dicho valor corresponde al extremo superior del intervalo de ingesta media en individuos adultos en distintos países europeos (0,7-2,3 g/día o ~0,4-0,8 % del valor energético total de la dieta). Dicho valor a su vez concuerda con las recomendaciones de ingesta de ácido alfa-linolénico basadas en consideraciones de salud cardiovascular y neurológica de aproximadamente el 1 % del valor energético total de la dieta, que correspondería a 2-3 g de ácido alfa-linolénico/día para un consumo de energía 1.800-2.700 kcal/día. El Panel considera por tanto que la referencia propuesta de etiquetado para el valor de ingesta de ácido alfa-linolénico de 2 g está en consonancia con la ingesta recomendada para los individuos en la población general.

Con respecto al ácido linoleico, el Panel ha propuesto un valor de referencia para el etiquetado de alimentos de 10 g (EFSA, 2009d), lo cual es consistente con la ingesta recomendada para las personas adultas en la población general en los países europeos basadas en consideraciones de salud cardiovascular (4 % del total de energía de la dieta, lo cual equivale a 8-12 g/día en adultos). La ingesta media de ácidos grasos poliinsaturados n-6 (incluyendo principalmente ácido linoleico) en Europa se encuentra comprendida entre 7 y 19 g/día.

4.2.4 Seguridad

No existen datos acerca de los efectos adversos de un consumo elevado de ácido alfa-linolénico y de ácido linoleico; la mayor parte de los datos hacen referencia a un consumo excesivo de EPA y DHA, que son biológicamente más potentes que su precursor, y que un exceso en su consumo en forma de suplementos puede aumentar la peroxidación lipídica y reducir la producción de citoquinas (Meydani, 2000)

(Vedin et al., 2008). Sin embargo, el Comité de expertos FAO/OMS (FAO, 2010) también reconoció que consumos elevados de dichos ácidos grasos n-3 no han tenido efectos adversos a corto/medio plazo en ensayos en humanos, y que algunos individuos en poblaciones con alto consumo de marisco, ingieren cantidades más altas sin aparente evidencia de daño. Estudios experimentales muestran que el riesgo de peroxidación de lípidos puede aumentar cuando el consumo de ácidos grasos poliinsaturados representa más del 11 % del valor energético total de la dieta, en especial cuando la ingesta de tocoferol es baja (Elmadfa y Kornsteiner, 2009).

Por otra parte, algunos estudios han asociado el consumo de grandes cantidades de grasa, en particular de ácido linoleico, con un mayor incremento a largo plazo en el riesgo de cáncer. En este sentido, los resultados de un metaanálisis no sugieren que exista una relación directa entre el consumo de cantidades elevadas de ácido linoleico y cáncer, aunque, a partir de los datos de algunos estudios, no puede descartarse que exista un cierto incremento en el riesgo (Zock y Katan, 1998).

La opinión adoptada por el Panel NDA de EFSA es que no hay evidencia consistente de que la ingesta de ácido alfa-linolénico, ni de cualquiera de los ácidos grasos poliinsaturados n-6 tenga efectos perjudiciales sobre la salud (por ejemplo, en la promoción de las enfermedades relacionadas con la dieta). El grupo de expertos propone no establecer una UL ni para el ácido alfa-linolénico, ni para el total o cualquiera de los ácidos grasos poliinsaturados n-6 (EFSA, 2010).

4.2.5 Conclusión

Revisada la información disponible, el Comité Científico concluye que no hay suficientes evidencias científicas que relacionen un elevado consumo de ácido alfa-linolénico con el desarrollo de efectos adversos y, por tanto, comparte la opinión emitida por el Panel NDA de EFSA de no establecer niveles máximos de ingesta total ni para el ácido alfa-linolénico, ni para el total o cualquiera de los ácidos grasos poliinsaturados n-6 (EFSA, 2010).

Sin embargo, teniendo en cuenta el ámbito de la solicitud (niveles máximos en relación con la formulación de complementos alimenticios), el Comité Científico de la AESAN considera razonablemente fundamentado establecer unos límites prudentes que estén dentro de los valores de ingesta de referencia de 2 g/día para el ácido alfa-linolénico que han sido establecidos por EFSA.

De igual forma y aunque no hay un consenso establecido sobre cuál debe ser la relación óptima entre los ácidos grasos poliinsaturados n-6 y n-3, consideramos adecuado mantener la relación entre los valores de ingesta de referencia establecidos por EFSA para ambos ácidos grasos (relación de 5:10 g/día para el ácido linoleico y 2 g/día para el ácido alfa-linolénico).

Por lo tanto, este Comité considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de una cantidad máxima de 1 g/día de ácido alfa-linolénico, con una relación ácido linoleico/ácido alfa-linolénico de un máximo de 5 presentada por la AESAN, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como ingredientes en complementos alimenticios.

Por otra parte, los ácidos grasos de la familia n-3 son susceptibles de oxidación, por tanto debe asegurarse la estabilidad del producto final.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Maisons-Alfort, le 8 septembre 2008. Disponible en: <http://www.anses.fr/Documents/NUT2007sa0231q.pdf> [acceso: 27-11-12].
- Bélgica (1992). Arrêté royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriments et de denrées alimentaires auxquelles des nutriments ont été ajoutés (Mon. 15. IV.1992).
- Bjerve, K.S. (1989). n-3 fatty acid deficiency in man. *Journal of Internal Medicine. Supplement*, 731, pp: 171-175.
- BOE (2008). Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación. BOE 131 de 30 de mayo de 2008, pp: 25.121-25.137.
- De Lorgeril, M. y Salen, P. (2006). The Mediterranean-style diet for the prevention of cardiovascular diseases. *Public Health Nutrition*, 9 (1A), pp: 118-123.
- EFSA (2009a). European Food Safety Authority. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Opinion on the substantiation of health claims related to alpha-linolenic acid and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 493) and maintenance of normal blood pressure (ID 625) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 7 (9):1.252, pp: 17.
- EFSA (2009b). European Food Safety Authority. EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to linoleic acid and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 489) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 7 (9): 1.276, pp: 12.
- EFSA (2009c). European Food Safety Authority. European Food Safety Authority. Scientific Opinion of Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on the substantiation of a health claim related to ALA and contribution to brain development pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 1.005, pp: 9.
- EFSA (2009d). European Food Safety Authority. Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *The EFSA Journal*, 1.176, pp: 11.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *The EFSA Journal*, 8 (3): 1.461, pp: 107.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to alpha-linolenic acid and contribution to brain and nerve tissue development pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9 (4):2.130, pp: 8.
- Elmadfa, I. y Kornsteiner, M. (2009). Fats and fatty acid requirements for adults. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 55, pp: 56-75.
- FAO (2010). Food and Agriculture Organization. Fats and fatty acids in human nutrition. En libro: *Report of an expert consultation*. FAO Food and nutrition, paper 91, Rome.
- Goyens, P.L., Spilker, M.E., Zock, P.L., Katan, M.B. y Mensink, R.P. (2006). Conversion of alpha-linolenic acid in humans is influenced by the absolute amounts of alpha-linolenic acid and linoleic acid in the diet and not by their ratio. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84, pp: 44-53.
- Holman, R.T., Johnson, S.B. y Hatch, T.F. (1982). A case of human linolenic acid deficiency involving neurological abnormalities. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 35, pp: 617-623.
- Hu, F.B., Manson, J.E. y Willett, W.C. (2001). Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. *Journal of the American College of Nutrition*, 20, pp: 5-19.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Kinsella, J.E., Lokesh, B., Broughton, S. y Whelan, J. (1990). Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoids: potential effects on the modulation of inflammatory and immune cells: an overview. *Nutrition*, 6, pp: 24-44.

- Marangoni, F., Colombo, C., Martiello, A., Poli, A., Paoletti, R. y Galli, C. (2007). Levels of the n-3 fatty acid eicosapentaenoic acid in addition to those of alpha linolenic acid are significantly raised in blood lipids by the intake of four walnuts a day in humans. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 17, pp: 457-461.
- Meydani, M. (2000). Omega-3 fatty acids alter soluble markers of endothelial function in coronary heart disease patients. *Nutrition Reviews*, 58, pp: 56-59.
- Palou, A., Picó, C., Bonet, M.L., Serra, F., Oliver, P., Rodríguez, A.M. y Ribot, J. (2008). En libro: *El libro blanco de las grasas en alimentación funcional*. Instituto Flora, Unilever Foods S.A., Barcelona, España. Departamento Legal B-50.482-2008.
- Simopoulos, A.P. (2006). Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 60, pp: 502-507.
- UE (2006a). Directiva 2006/141/CE de la Comisión, de 22 de diciembre de 2006, relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y por la que se modifica la Directiva 1999/21/CE. DO L 401 de 30 de diciembre de 2006, pp: 1-33.
- UE (2006b). Reglamento (CE) N° 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. DO L 404 de 30 de diciembre de 2006, pp: 9-25.
- Vedin, I., Cederholm, T., Freund Levi, Y., Basun, H., Garlind, A., Faxen Irving, G., Jonhagen, M.E., Vessby, B., Wahlund, L.O. y Palmblad, J. (2008). Effects of docosahexaenoic acid-rich n-3 fatty acid supplementation on cytokine release from blood mononuclear leukocytes: the OmegAD study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87, pp: 1.616-1.622.
- Zock, P.L. y Katan, M.B. (1998). Linoleic acid intake and cancer risk: a review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, pp: 142-153.

4.3 Ácido oleico

4.3.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión del ácido oleico en el Real Decreto 1487/2009 sin especificar una cantidad máxima diaria. La propuesta se ha consultado con la industria y se ha realizado debido a que, a nivel europeo, existe un gran número de complementos que lo contienen.

4.3.2 Características y fuentes

El ácido oleico es un ácido graso monoinsaturado (MUFA) con 18 átomos de carbono y un doble enlace en posición 9-*cis*.

Es el más común de los MUFA y se encuentra en cantidades variables en grasas y aceites de la dieta. El aceite de oliva contiene entorno al 71 % de ácido oleico, el aceite de colza alrededor del 60 %, y el aceite de palma un 40 %. Variedades alto-oleico del aceite de girasol y aceite de colza contienen alrededor del 75-85 % de ácido oleico. También se encuentra en cantidades significativas en el sebo de buey (alrededor del 43 %) y en la manteca de cerdo (alrededor del 44 %).

Alegaciones aprobadas por EFSA

Mantenimiento de concentraciones normales de LDL-colesterol en sangre. Se ha aceptado la alegación de propiedades saludables que hace referencia a la sustitución de ácidos grasos saturados presentes en los alimentos por mezclas de MUFAs (por ejemplo, el ácido oleico) y/o mezclas de PUFAs (por ejemplo, el ácido linoleico y ácido alfa-linolénico) y el mantenimiento de concentraciones normales de LDL-colesterol en sangre (EFSA, 2011). La población diana es la población general.

4.3.3 Nutrición y metabolismo

Función

Al igual que otros ácidos grasos, los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA, *MonoUnsaturated Fatty Acid*) son absorbidos casi completamente en el intestino. Dichos ácidos grasos pueden ser oxidados (para la obtención de energía), convertidos en otros ácidos grasos, o incorporados en lípidos tisulares. Los seres humanos pueden sintetizar MUFA y, por tanto, no se requiere como tal a partir de la dieta. Los MUFA pueden obtenerse de la dieta, pero también pueden ser sintetizados en nuestro organismo. El proceso de síntesis ocurre a partir del ácido esteárico por acción de la enzima $\Delta 9$ desaturasa. Dicha enzima, que es muy activa en los tejidos de mamíferos, cataliza la introducción de dobles enlaces en la posición 9-10 de la cadena del ácido graso, formándose mayoritariamente ácido oleico. Los productos de la síntesis *de novo* son esterificados con glicerol para formar triglicéridos. En el hígado estos triglicéridos se incorporan en las VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) y son transportados a través de la circulación a los tejidos diana.

Consumo habitual

La ingesta media de MUFA en la población europea adulta oscila entre un 11 y un 18 % de la energía total de la dieta. El promedio más alto se ha descrito en Grecia, donde representa en torno al 22 o 23 % de la energía de la dieta (EFSA, 2010).

En bebés, la ingesta media de MUFA oscila entre un 8 y un 11 % de la energía total de la dieta, y en niños y adolescentes entre el 10 y el 13 %. En Portugal y España, se han encontrado los promedios de ingesta más altos (EFSA, 2010).

Ingesta recomendada

El Panel NDA de EFSA ha propuesto no establecer un valor dietético de referencia para los MUFA (EFSA, 2010). Esto es debido a que los MUFA no son esenciales desde el punto de vista nutricional, pueden ser sintetizados en nuestro organismo, y no tienen un papel específico conocido en la prevención o promoción de las enfermedades relacionadas con la dieta. Por este motivo no se consideran constituyentes indispensables de la dieta.

El Instituto de Medicina de los Estados Unidos (IoM, 2005) tampoco ha establecido unos valores de ingesta adecuada (AI), requerimiento medio (AR) o aporte dietético recomendado (RDA) ya que no hay ninguna evidencia que indique que los MUFA son esenciales en la dieta y no tienen ningún papel conocido en la prevención de enfermedades crónicas.

La OMS/FAO (2003) ha calculado los objetivos de ingesta de MUFA como "grasa total menos el conjunto de ácidos grasos saturados + ácidos grasos poliinsaturados + ácidos grasos *trans*" y no ha establecido un valor definitivo.

Ahora bien, en Europa, diversas organizaciones han realizado unas recomendaciones de ingesta de MUFA que oscilan, en términos generales, entre valores de hasta un 10 y un 20 % de la energía total de la dieta. En concreto, las recomendaciones de los países de habla germana, que incluyen Alemania, Austria y Suiza (D-A-CH, 2008), indican que los MUFA se pueden consumir hasta un 10 % de la energía total de la dieta. En los casos en los que se consuma una mayor cantidad de grasa, es aceptable un consumo de MUFA superior al 10 % de la energía de la dieta. Las recomendaciones nutricionales de los países nórdicos, que incluyen a los cinco países escandinavos (Dinamarca, Finlandia, Islandia, Noruega, y Suecia) (NNR, 2004), establecen que la ingesta de ácidos grasos insaturados *cis* en adultos y niños de más de 2 años de edad debería estar alrededor del 20 % de la energía total de la dieta, y de ellos, los MUFA deben cubrir aproximadamente del 10 al 15 %, y los PUFA alrededor del 5 a 10 %. El Comité COMA del Reino Unido (DoH, 1991) recomienda que los MUFA (ácido oleico principalmente) debe proporcionar una media del 12 % de la energía total de la dieta (incluyendo el alcohol). La Agencia francesa (AFSSA, 2001) recomienda una ingesta de MUFA del 20 % de la energía total de la dieta en adultos, incluyendo mujeres embarazadas y lactantes. El Consejo de Salud de los Países Bajos (GR, 2001) no formula valores de ingesta adecuada (AI) para MUFA individualmente, pero sí que formula rangos para los MUFA y PUFA conjuntamente. Estos se han calculado sobre la base de los valores dietéticos de referencia para las grasas, ácidos grasos saturados y ácidos grasos *trans*. Para un consumo total de grasa del 20 % del total de la energía de la dieta, la ingesta de MUFA y PUFA no debe ser inferior al 8 % del total de energía y no superior al 19 %. Con un consumo de grasa de 35 % de la energía de la dieta, el consumo óptimo de MUFA y PUFA debe representar entre el 22 y el 33 % de la energía de la dieta. Puesto que la ingesta de PUFA debe estar entre el 3 y 12 % de la energía de la dieta, los límites superior e inferior para la ingesta de MUFA estarían entre el 10 y 30 % (GR, 2001).

No se han realizado recomendaciones específicas para niños.

4.3.4 Seguridad

No se han descrito efectos adversos derivados de un mayor consumo ácido oleico.

No obstante, debe mencionarse que existen publicaciones que relacionan el ácido oleico con la incidencia de cáncer o con procesos relacionados con la progresión de dicha enfermedad. En concreto, niveles elevados de ácido oleico en eritrocitos se han relacionado con una mayor incidencia de cáncer de mama en mujeres posmenopáusicas (Pala et al., 2001). Sin embargo, en este estudio no se establece si la procedencia del ácido oleico es dietética, y debe considerarse que aunque el ácido oleico tisular proviene en parte de la dieta, la mayor parte procede generalmente de síntesis endógena a partir del ácido esteárico. Asimismo, en líneas celulares derivadas de un tumor mamario se ha visto que el ácido oleico induce migración, proliferación, invasión y prolonga la supervivencia de dichas células, sin embargo dicho efecto no se ha observado en células epiteliales no tumorales (Soto-Guzman et al., 2010).

Sin embargo, los resultados que asocian el ácido oleico con el cáncer son controvertidos. De hecho, se han descrito efectos potencialmente protectores del ácido oleico frente al cáncer, ya que se ha demostrado que dicho ácido graso reprime la actividad transcripcional del oncogén Her-2/neu, que está asociado con carcinomas de mama, ovario y estómago (Menendez et al., 2006).

Por otra parte, aunque los estudios analíticos han proporcionado algunos resultados inconsistentes, en general la mayoría de estudios caso-control y de cohortes han mostrado que el ácido oleico y el aceite de oliva se asocian con una reducción en el riesgo de cáncer (principalmente de mama, colorrectal y cáncer de próstata), en comparación con dietas ricas en grasa total y en ácido linoleico o ácidos grasos saturados (Binukumar y Mathew, 2005) (López-Miranda et al., 2008). Por otra parte, en un metaanálisis de estudios observacionales hasta julio de 2003 (Boyd et al., 2003), el consumo de MUFA no se asoció significativamente con el riesgo de cáncer de mama.

4.3.5 Conclusiones

Con la información disponible, el Comité Científico concluye que no hay evidencias científicas que relacionen el consumo de ácido oleico con el desarrollo de efectos adversos, por tanto considera que el ácido oleico puede ser consumido como complemento alimenticio de forma segura siempre que dicho consumo se realice dentro de unos límites razonables de ingesta.

Referencias

- AFSSA (2001). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. En libro: *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. Editions Tec&Doc, Paris, pp: 1-605.
- Binukumar, B. y Mathew, A. (2005). Dietary fat and risk of breast cancer. *World Journal of Surgical Oncology*, 3, pp: 1-45.
- Boyd, N.F., Stone, J., Vogt, K.N., Connelly, B.S., Martin, L.J. y Minkin, S. (2003). Dietary fat and breast cancer risk revisited: a meta-analysis of the published literature. *British Journal of Cancer*, 89, pp: 1.672-1.685.
- D-A-CH (2008). Deutsche Gesellschaft für Ernährung-Österreichische Gesellschaft für Ernährung-Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung-Schweizerische Vereinigung für Ernährung), Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Umschau Braus Verlag, Frankfurt am Main.
- DoH (1991). Department of Health. Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom. En libro: *Report of the Panel on Dietary Reference Values of the Committee on Medical Aspects of Food Policy*. HMSO, London.

- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *The EFSA Journal*, 8, pp: 1.461.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to the replacement of mixtures of saturated fatty acids (SFAs) as present in foods or diets with mixtures of monounsaturated fatty acids (MUFAs) and/or mixtures of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 621, 1190, 1203, 2906, 2910, 3065) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9, pp: 2.069.
- GR (2001). Gezondheidsraad. Dietary Reference Intakes: energy, proteins, fats and digestible carbohydrates. Publication No. 2001/19R. Health Council of the Netherlands, The Hague.
- IoM (2005). Institute of Medicine. En libro: *Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids*. National Academies Press, Washington DC.
- López-Miranda, J., Pérez-Jimenez, F., Ros, E., De Caterina, R., Badimon, L., Covas, M.I., Escrib, E., Ordovas, J.M., Soriguer, F., Abia, R., de la Lastra, C.A., Battino, M., Corella, D., Chamorro-Quiros, J., Delgado-Lista, J., Giugliano, D., Esposito, K., Estruch, R., Fernandez-Real, J.M., Gaforio, J.J., La Vecchia, C., Lairon, D., Lopez-Segura, F., Mata, P., Mendez, J.A., Muriana, F.J., Osada, J., Panagiotakos, D.B., Paniagua, J.A., Perez-Martinez, P., Perona, J., Peinado, M.A., Pineda-Priego, M., Poulsen, H.E., Quiles, J.L., Ramirez-Tortosa, M.C., Ruano, J., Serra-Majem, L., Sola, R., Solanas, M., Solfrizzi, V., de la Torre-Fornell, R., Trichopoulou, A., Uceda, M., Villalba-Montoro, J.M., Villar-Ortiz, J.R., Visioli, F. y Yiannakouris, N. (2008). Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaen and Cordoba (Spain). *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 20, pp: 284-294.
- Menéndez, J.A., Papadimitropoulou, A., Vellon, L. y Lupu, R. (2006). A genomic explanation connecting "Mediterranean diet", olive oil and cancer: oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, induces formation of inhibitory "PEA3 transcription factor-PEA3 DNA binding site" complexes at the Her-2/neu (erbB-2) oncogene promoter in breast, ovarian and stomach cancer cells. *European Journal of Cancer*, 42, pp: 2.425-2.432.
- NNR (2004). Nordic Nutrition Recommendations. En libro: *Integrating nutrition and physical activity*. Nordic Council of Ministers, Copenhagen, pp: 1-436.
- OMS/FAO (2003). Organización Mundial de la Salud/Food and Agriculture Organization. Expert Report: Diet, nutrition and prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. *WHO Technical Report Series*, 916.
- Pala, V., Krogh, V., Muti, P., Chajes, V., Riboli, E., Micheli, A., Saadatian, M., Sieri, S. y Berrino, F. (2001). Erythrocyte membrane fatty acids and subsequent breast cancer: a prospective Italian study. *Journal of the National Cancer Institute*, 93, pp: 1.088-1.095.
- Soto-Guzmán, A., Navarro-Tito, N., Castro-Sánchez, L., Martínez-Orozco, R. y Salazar, E.P. (2010). Oleic acid promotes MMP-9 secretion and invasion in breast cancer cells. *Clinical and Experimental Metastasis*, 27, pp: 505-515.

4.4 Ácidos grasos omega-3 (DHA + EPA)

4.4.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria para la suma de ácido docosahexanoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA) de 3 g. Dicha propuesta se basa en la opinión científica de EFSA que afirma que ingestas de complementos de DHA y EPA combinados a dosis de hasta 5 g no plantea problemas seguridad (EFSA 2012).

En Bélgica y en Italia (propuesta legislativa) están autorizados en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Bélgica, 1992) (Italia, 2012).

En Dinamarca también están autorizados. En el caso del DHA, la cantidad total máxima utilizada no debe superar los 1.050 mg por dosis diaria recomendada y en el caso del EPA, la cantidad total máxima utilizada no debe superar los 1.500 mg por dosis diaria recomendada (Dinamarca, 2011).

4.4.2 Características y fuentes

El ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5 Δ 5c,8c,11c,14c,17c) y el ácido docosahexaenoico (DHA; 22:6 Δ 4c,7c,10c,13c,16c,19c) son ácidos grasos poliinsaturados omega 3 de cadena larga (LCPUFA n-3, por sus siglas en inglés).

La principal fuente de EPA y DHA es el pescado y mariscos crustáceos, principalmente el krill antártico (*Euphausia superba*). Otras fuentes naturales son la leche humana, las algas marinas cultivadas y los mamíferos marinos. Estos ácidos grasos pueden ser también proporcionados por los alimentos y suplementos enriquecidos con LCPUFA n-3.

Los LCPUFA n-3 están presentes en los alimentos y complementos alimenticios principalmente como triglicéridos, y, en cantidades más pequeñas, como ácidos grasos libres o como fosfolípidos. También se pueden encontrar en forma de ésteres etílicos en suplementos concentrados producidos sintéticamente. Se ha descrito que los ácidos grasos unidos a fosfolípidos presentan una mayor tasa de absorción e incorporación a las membranas celulares que los que se ingieren en forma de triglicéridos. Los que se ingieren en forma de ésteres de etilo presentan la menor tasa de absorción e incorporación a las membranas celulares (EFSA, 2012). En cualquier caso, estos ácidos grasos se absorben casi completamente independientemente de la fuente, y por tanto este factor no ha sido considerado por el Panel NDA de EFSA en la evaluación de la seguridad de EPA y DHA a largo plazo (EFSA, 2012).

Los ácidos EPA y DHA también proceden en el organismo de síntesis endógena a partir de ácido alfa-linolénico (ALA) a través de la acción secuencial de diversas desaturasas y elongasas en los tejidos animales, pero no en las plantas. Las estimaciones indican una baja conversión de ALA en EPA y DHA, siendo menor si la ingesta diaria de estos LCPUFA n-3 es alta (EFSA, 2010a). De hecho, la producción endógena de EPA y DHA a partir de ALA puede ser insignificante en comparación con las dosis utilizadas en los estudios considerados para la evaluación de la seguridad de dichos ácidos grasos (EFSA, 2012).

Los LCPUFA n-3 pueden experimentar un proceso de peroxidación durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos y complementos alimenticios ricos en dichos ácidos grasos en ausencia de cantidades adecuadas de antioxidantes (por ejemplo, vitamina E) (EFSA, 2012).

Alegaciones aprobadas por EFSA

EFSA ha aprobado las siguientes alegaciones o declaraciones de propiedades saludables respecto al EPA y DHA (EFSA, 2009, 2010c):

- Mantenimiento de la función cardiaca normal. La población diana es la población general. El Panel considera que es necesaria la ingesta de 250 mg de EPA y DHA para obtener el efecto declarado. Dicha cantidad puede ser consumida como parte de una dieta equilibrada.
- Mantenimiento de la presión sanguínea normal. La población diana es la población general. El Panel considera que es necesaria la ingesta de alrededor de 3 g/día de EPA y DHA para obtener el efecto declarado.
- Mantenimiento de las concentraciones normales de triglicéridos. La población diana son los hombres y mujeres adultos. El Panel considera necesaria la ingesta de 2 g/día de EPA y DHA para obtener el efecto declarado. Dicha cantidad puede ser consumida como parte de una dieta equilibrada.

Asimismo, respecto al DHA, EFSA también ha aprobado las siguientes declaraciones de propiedades saludables (EFSA, 2010b):

- Mantenimiento de la función cerebral normal. La población diana es la población general. El Panel considera que es necesaria la ingesta de 250 mg de DHA, en una o dos tomas, para obtener el efecto declarado. Dicha cantidad puede ser consumida como parte de una dieta equilibrada.
- Mantenimiento de la visión normal. La población diana es la población general. El Panel considera que es necesaria la ingesta de 250 mg de DHA, en una o dos tomas, para obtener el efecto declarado. Dicha cantidad puede ser consumida como parte de una dieta equilibrada.

4.4.3 Nutrición y metabolismo

Función

Los LCPUFA n-3 en nuestro organismo pueden ser usados como fuente de energía (es decir oxidados a dióxido de carbono y agua), incorporados en lípidos tisulares (son importantes componentes estructurales de las membranas celulares), o utilizados en la síntesis de eicosanoides. Se pierden pequeñas cantidades durante la descamación de la piel y otras células epiteliales (IoM, 2005).

En concreto, el DHA es un componente importante de los lípidos estructurales de membrana, especialmente de los fosfolípidos en el tejido nervioso y la retina. El EPA puede ser transformado en eicosanoides, un grupo de sustancias biológicamente activas que incluyen prostaglandinas, prostaciclina y leucotrienos, que participan en la regulación de la presión arterial, la función renal, coagulación de la sangre, reacciones inflamatorias e inmunológicas y otras funciones en los tejidos (Kinsella et al., 1990) (Miles y Calder, 2012). Otros metabolitos de EPA y DHA (resolvinas, protectinas) se cree que participan en la respuesta inflamatoria (Kohli y Levy, 2009).

Ingestas elevadas de EPA y DHA resultan en un descenso de las concentraciones tisulares de ácido araquidónico (AA) y un aumento de las concentraciones de EPA y DHA, respectivamente. La suplementación con DHA también está acompañada por un aumento de EPA, lo que podría explicarse por retroconversión de DHA a EPA o por inhibición del metabolismo de EPA. Estos efectos de la suplementación con DHA inducen cambios en el metabolismo de AA y en el equilibrio de los eicosanoides sintetizados a partir de

ácidos grasos n-6 y n-3, por lo que pueden afectar las funciones reguladas por los eicosanoides anteriormente citados (IoM, 2005).

Aunque la interconversión endógena de EPA y DHA puede ocurrir *in vivo*, particularmente cuando el ácido graso se administra de forma aislada a dosis altas, dicho proceso se considera insignificante cuando se administran ambos ácidos grasos en combinación, en las dosis empleadas en los distintos estudios considerados para la evaluación de su seguridad (EFSA, 2012). En este sentido, el Panel NDA de EFSA destaca que los efectos de estos LCPUFA n-3 pueden depender de la forma de administración (por ejemplo, si se administran solos o en combinación) (EFSA, 2012).

Consumo habitual

La ingesta media de LCPUFA n-3 en los países europeos varía considerablemente según el género, grupo de edad, hábitos alimentarios (por ejemplo, consumo elevado o escaso de pescado) y hábitos de ingesta de suplementos (EFSA, 2012). Asimismo, hay que destacar que existe una gran diversidad en la metodología utilizada para evaluar las ingestas individuales, lo cual hace difícil las comparaciones directas.

En cuanto al EPA, estudios realizados en distintos países europeos muestran que su consumo en adultos procedente sólo de alimentos varía entre valores relativamente bajos de 50 mg/día (España, ambos sexos, consumidores ocasionales de pescado, 35-65 años) o 150 mg/día (Francia, hombres, ≥ 45 años) hasta valores más altos de 308 mg/día (Francia, mujeres, 35 años) y 428 mg/día (Bélgica, mujeres, 18-39 años). Los datos de las encuestas teniendo en cuenta también los complementos alimenticios muestran un consumo de EPA ligeramente mayor (hasta 330 mg/día, Noruega, 16-79 años). En grandes consumidores de pescado o marisco, la ingesta media diaria varía entre 320 mg/día (España, 35-65 años) y 991 mg/día (Francia, 18 años), aunque no se tienen datos en dichos individuos considerando también la ingesta a partir de suplementos (EFSA, 2012).

En el caso del DHA, la media de consumo diario de dicho ácido graso procedente de alimentos varía entre 131 mg/día (Bélgica, mujeres, 18-39 años) y 273 mg/día (Francia, hombres, ≥ 45 años), hasta valores más altos de 574 mg/día (Francia, mujeres, 35 años) y 668 mg/día (Francia, hombres, 45 años). Los datos de las encuestas teniendo en cuenta conjuntamente los alimentos y los complementos alimenticios muestran valores más elevados de ingesta media diaria de DHA en la población adulta en general (hasta 490 mg/día, Noruega, 16-79 años). La media de ingesta diaria en los grandes consumidores de pescado o marisco oscila entre 600 mg/día (mujeres finlandesas, de 18 años) y 1.709 mg/día (Francia, 18 años). Tampoco se dispone de estudios que hayan evaluado la ingesta de DHA procedente tanto de los alimentos como de los complementos en los grandes consumidores de pescado o marisco (EFSA, 2012).

En definitiva, la ingesta media diaria de LCPUFA n-3 en adultos procedente sólo de alimentos es generalmente <1.200 mg/día, y <1.300 mg/día al considerar también los complementos alimenticios. En los grandes consumidores de pescado o marisco, la ingesta media de LCPUFA n-3 procedente de los alimentos es generalmente $<2,7$ g/día. No hay estudios sobre la ingesta de EPA y DHA procedente de los alimentos y complementos en los grandes consumidores de pescado o marisco (EFSA, 2012). En España, un estudio realizado en la población vasca, muestra que la ingesta de EPA y DHA procedente sólo de alimentos es también generalmente <1.200 mg/día, variando entre 250 mg/día (en los consumidores ocasionales de pescado) hasta 1.170 mg/día en los grandes consumidores de pescado (Amiano et al., 2001).

Ingesta recomendada

Las recomendaciones de los organismos nacionales e internacionales de ingesta de LCPUFAs n-3 (en su mayoría como EPA y DHA) oscilan entre 200 y 600 mg/día para adultos, y entre 40 y 250 mg/día para niños mayores de 6 meses y para niños y adolescentes (EFSA, 2012). En concreto, EFSA recomienda una ingesta de 250 mg/día en adultos para la suma de EPA y DHA (EFSA, 2010a). Estas recomendaciones se han basado generalmente en la relación inversa observada entre el consumo de estos LCPUFA n-3 (sobre todo a partir de los aceites de pescado y pescado) y un menor riesgo de enfermedad arterial coronaria.

Algunos organismos, incluida EFSA (2010a), han realizado también recomendaciones específicas de DHA para lactantes y niños de 6 a 24 meses de edad que van desde 70 a 100 mg/día, basadas en su acumulación en el sistema nervioso central y sus efectos sobre la función visual, así como una cantidad adicional de DHA (100-200 mg/día) para las mujeres embarazadas y las madres lactantes.

4.4.4 Seguridad

Los efectos adversos que se han descrito en humanos en relación con el consumo de EPA y DHA son episodios de sangrado, alteración en la función inmune, alteraciones en el metabolismo lipídico y de la glucosa, y un aumento de la peroxidación lipídica.

Episodios de sangrado

Los posibles efectos de los LCPUFA n-3 sobre los episodios de sangrado son compatibles con la función antitrombótica de los PUFA n-3 (Vanschoonbeek et al., 2003). Un estudio realizado en los *inuit* de Groenlandia con un consumo elevado de pescado graso (ingesta media de LCPUFA n-3 de alrededor de 6,5 g/día) (Bang et al., 1971) muestra un aumento de la tendencia a sangrar por la nariz y el tracto urinario, y un aumento de la mortalidad por accidente cerebrovascular hemorrágico. Se muestra también un aumento del tiempo de sangrado y una agregación plaquetaria *in vitro* reducida. El Panel NDA de EFSA señala que en estos estudios no se controlaron otros factores distintos al consumo de LCPUFA n-3 de la dieta que pudieran haber sido responsables o corresponsables de dichos efectos (EFSA, 2012).

Varios estudios controlados de intervención en humanos han abordado la hipótesis de que la suplementación con LCPUFA n-3 podría modificar la función plaquetaria, aumentar el tiempo de hemorragia y el riesgo de sangrado espontáneo y accidente cerebrovascular hemorrágico. Por ejemplo, un estudio de intervención en humanos (Yokoyama et al., 2007) que investigó los efectos de 1,8 g/día de EPA en forma de ésteres etílicos consumidos durante 5 años en combinación con estatinas (n=9.326), frente a las estatinas solas (n=9.319), en individuos hipercolesterolémicos y grandes consumidores de pescado en la prevención primaria y secundaria de la enfermedad coronaria del corazón, también evaluaron sus posibles efectos sobre el riesgo de accidente cerebrovascular (Tanaka et al., 2008). No se observaron diferencias significativas en la incidencia total de accidentes cerebrovasculares, o en la incidencia de hemorragia cerebral o subaracnoidea. Ahora bien, se observó que el sangrado (hemorragias nasales, subcutáneas, etc.), que se evaluó mediante autoreporte como posible efecto secundario, fue más frecuente en el grupo EPA que en los controles. Respecto de estos resultados, el Panel NDA de EFSA señala que al proceder de autoreporte y no ser datos objetivos, pueden estar sujetos a sesgo. Así, el Panel concluye que

la ingesta de EPA sola en dosis de hasta 1,8 g/día durante 2 años no aumenta el riesgo de complicaciones hemorrágicas (EFSA, 2012).

Es destacable que entre los diferentes estudios de cohorte prospectivos publicados hasta la fecha sobre la relación entre la ingesta dietética de LCPUFA n-3 y el riesgo de accidente cerebrovascular, ninguno ha mostrado un aumento en el riesgo de accidente cerebrovascular hemorrágico (He et al., 2002) (Skerrett y Hennekens, 2003) (IoM, 2005). La media de ingesta diaria de LCPUFA n-3 en los quintiles más altos de ingesta de estos estudios fue <1 g/día. El Panel NDA de EFSA concluye que no hay evidencia de un mayor riesgo de accidente cerebrovascular hemorrágico con las dosis de LCPUFA n-3 que normalmente se consumen en las dietas occidentales, o en las tomas suplementarias de EPA de hasta 1,8 g/día (EFSA, 2012).

Una revisión que incluye 48 ensayos controlados aleatorios realizados en sujetos con alto riesgo de eventos cardiovasculares (Hooper et al., 2004) ha evaluado los efectos de LCPUFA n-3 en dosis de 0,4 a 7 g/día (en comparación con placebo o un aceite control) durante por lo menos 6 (y hasta 47) meses sobre eventos relacionados con las enfermedades cardiovasculares. La mayoría de los sujetos estaban bajo medicación con antitrombóticos para la prevención o el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Siete de los estudios, que usaron EPA y DHA en dosis de 1,8 a 6,9 g/día durante 6 a 24 meses, informaron sobre episodios de sangrado. No se observaron diferencias en el riesgo de sangrado entre el grupo intervenido y el control (o placebo). El estudio que utilizó la dosis más alta de LCPUFA n-3 (6,9 g/día) duró 6 meses y el estudio de más larga duración (24 meses) utilizó 5,1 g/día de EPA y DHA.

Después de revisar estos y otros estudios publicados, el Panel NDA de EFSA considera que la ingesta suplementaria de EPA y DHA combinados de hasta aproximadamente 5 g/día durante un máximo de 2 años y hasta aproximadamente 7 g/día durante un máximo de 6 meses, no aumenta el riesgo de episodios hemorrágicos espontáneos o complicaciones hemorrágicas, incluso en sujetos con alto riesgo de sangrado (por ejemplo, tomando ácido acetilsalicílico o anticoagulantes). El Panel señala que los datos disponibles son insuficientes para concluir si las mismas dosis administradas mayoritariamente como EPA o DHA, por separado, tendrían efectos diferentes. El Panel NDA de EFSA también considera que la ingesta de EPA solo en dosis de hasta 1,8 g/día durante 2 años no aumenta el riesgo de complicaciones hemorrágicas (EFSA, 2012).

Función plaquetaria

Respecto de los posibles efectos de los LCPUFA n-3 sobre la función plaquetaria, Violi et al. (2010) han revisado distintos estudios publicados que analizan dichos efectos. Entre los 21 estudios identificados, sólo siete fueron controlados. De éstos, tres se realizaron en sujetos sanos y cuatro en sujetos con hipercolesterolemia, hipertensión, diabetes tipo 2, o una combinación de estas patologías. Las dosis de LCPUFA n-3 variaron entre 1 y 4 g/día y la duración de los estudios fue de 30 días a 1 año. No se observaron efectos de la ingesta de LCPUFA n-3 sobre la agregación plaquetaria en los dos estudios de duración más corta y más larga, respectivamente, mientras que en cinco estudios se observó una inhibición de la función plaquetaria o una prolongación de la supervivencia de las plaquetas (duración del estudio 4-16 semanas). El efecto sobre la función plaquetaria no parece ser dependiente de dosis. La relación dosis-respuesta entre la ingesta de EPA y DHA y la agregación plaquetaria, el factor Von Willebrand (vWF), los factores de coagulación VII y VIII, la actividad antitrombina III (AT III), la actividad de la proteína C, fibrinógeno,

fibronectina y fibrinolisis (inhibidor del activador del plasminógeno 1, PAI-1; activador del plasminógeno tisular, t-PA) fueron evaluados específicamente en uno de los estudios en diez hombres sanos suplementados con dosis de 1,3; 4 ó 9 g de LCPUFA n-3 diarias por períodos de 6 semanas cada uno (Schmidt et al., 1990). No se observó ningún efecto significativo de la suplementación con estos ácidos grasos sobre la agregación plaquetaria. El fibrinógeno plasmático disminuyó de manera dependiente de la dosis después de la ingesta de 1,3 y 9 g de LCPUFA n-3. El vWF disminuyó después de la dosis más alta, mientras que las concentraciones plasmáticas del factor VII, factor VIII, y actividad de AT III, proteína C y la actividad de la fibronectina no se vieron alteradas por LCPUFA n-3. En reposo, PAI y t-PA aumentó después de la ingesta de 9 g de LCPUFA n-3, y PAI aumentó por la ingesta de LCPUFA n-3 de manera dependiente de la dosis. En definitiva, no se observó una relación clara entre la ingesta de dichos ácidos grasos y la mayoría de las variables relacionadas con la coagulación de la sangre. El Panel NDA de EFSA concluye que los cambios en la función plaquetaria observados a las dosis suplementarias de EPA y DHA (ya sean solos o en combinación) de hasta aproximadamente 4 g/día no se consideran adversos, ya que no están asociados con un mayor riesgo de complicaciones clínicas (EFSA, 2012).

Homeostasis de la glucosa

Respecto de los efectos sobre la homeostasis de la glucosa, estudios de intervención en humanos, en su mayoría no controlados, han descrito efectos adversos de la suplementación de LCPUFA n-3 (≥ 10 g/día) sobre la homeostasis de la glucosa, como el aumento de los requerimientos de insulina, el aumento de la hemoglobina glucosilada (HbA1c), y un aumento en ayunas y postprandial de la glucemia en pacientes con diabetes tipo 1 y 2 (De Caterina et al., 2007). En 2005, el IoM (*Institute of Medicine*) declaró que los individuos con "tolerancia alterada a la glucosa o condiciones de diabetes que requieran dosis incrementadas de hipoglucemiantes" deberían tener precaución al tomar suplementos de EPA y DHA (IoM, 2005).

Después de revisar estos y otros estudios, el Panel NDA de EFSA señala que los estudios de intervención en humanos que se han realizado con sus respectivos controles de ingesta de grasas no muestran, generalmente, un efecto diferencial de los aceites vegetales y aceite de pescado suplementario a dosis de hasta 5 g/día de EPA y DHA consumidos durante 12 semanas sobre el control de la glucosa en sangre en sujetos diabéticos, o en la sensibilidad a la insulina en sujetos sanos o diabéticos. El Panel considera que la ingesta de suplementos de EPA y DHA combinados de hasta 5 g/día consumidos durante un máximo de 12 semanas no afecta significativamente a la homeostasis de la glucosa en sujetos sanos o diabéticos. El Panel también destaca que los datos disponibles no son suficientes para concluir si las mismas dosis administradas mayoritariamente en forma de EPA o DHA tendrían efectos diferentes (EFSA, 2012).

Colesterolemia

Respecto de los efectos de los LCPUFA n-3 sobre la colesterolemia, un metaanálisis (Balk et al., 2006) que reunió 21 ensayos controlados aleatorios (en torno a 8.000 individuos) realizado en individuos sanos, en individuos con diabetes, hipertensión o dislipidemia, o en individuos con enfermedad cardiovascular, mostró que la suplementación con EPA + DHA resultó en un incremento significativo de las concentraciones de LDL-colesterol de +0,155 mmol/l comparado con los controles. En la mayoría de los estudios, los cambios en la concentración del LDL-colesterol asociados a la ingesta de EPA y DHA fue < 5 %. En

este metaanálisis, se excluyeron los estudios que usaron >6 g/día de EPA + DHA o que duraron menos de 4 semanas. Las dosis de EPA y DHA variaron entre 0,9 y 5,9 g/día (procedente de aceite de pescado y de la alimentación) y la duración de la intervención fue de entre 4 semanas a 2 años. Los cambios en la concentración de LDL-colesterol fueron acompañados por un descenso significativo de la concentración de triglicéridos (-0,31 mmol/l) y por un aumento significativo de la concentración de HDL-colesterol (+0,041 mmol/l), sin cambios significativos en el colesterol total. También se observó que las dosis de EPA y DHA tenían un efecto acumulativo sobre la magnitud de los cambios en los triglicéridos, mientras que los cambios en los niveles de LDL-colesterol y HDL-colesterol parecían ser independientes de la dosis.

En otro metaanálisis realizado por Hartweg et al. (2008, 2009) se evaluó el efecto de la suplementación con EPA y DHA sobre la colesterolemia en individuos con diabetes tipo 2. Estos individuos presentan un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, por tanto un incremento en las concentraciones de LDL-colesterol podría ser crítico. La mayoría de los estudios proporcionaron EPA y DHA en combinación a dosis de hasta 6 g/día. Comparado con el placebo (mayoritariamente aceites vegetales), la suplementación con LCPUFA n-3 incrementó significativamente en un 3 % la concentración de LDL-colesterol (incremento medio de +0,08 mmol/l). Este efecto sólo se observó a dosis de LCPUFA n-3 superiores a 2 g/día y estuvo acompañado por una reducción significativa de la concentración de triglicéridos circulantes de alrededor del 7 % (reducción media de 0,17 mmol/l), mientras que no se encontraron cambios en otros parámetros relacionados con los lípidos circulantes, incluyendo el colesterol total.

En una revisión sistemática y metaanálisis de ensayos controlados aleatorios publicada recientemente (Jacobson et al., 2011) (Wei y Jacobson, 2011), seis de los estudios compararon EPA (ésteres etílicos, >90 % EPA) con DHA (ésteres etílicos, >90 % DHA) y usaron aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de maíz o ALA como control de grasa. Estos estudios tuvieron una duración de 4-7 semanas, y administraron EPA y DHA a dosis de entre 2,3 y 4 g/día cada uno. El tratamiento con DHA resultó en un incremento significativo de las concentraciones de LDL-colesterol de un 2,6 % comparado con el grupo control, y de un 3,3 % comparado con el grupo de EPA, que no indujo cambios significativos en las concentraciones de LDL-colesterol (-0,7 %). Hay que señalar que el incremento en la concentración de LDL-colesterol inducido por la suplementación con DHA comparado con los controles, también resultó en un descenso significativo de la concentración de triglicéridos (-22,4 %) y un incremento significativo de la concentración de HDL-colesterol (+7,3 %). Por otra parte, la suplementación con EPA, que no tuvo efectos significativos sobre las concentraciones de LDL-colesterol (-0,7 %), tampoco indujo efectos significativos sobre las concentraciones de HDL-colesterol (+1,4 %), de manera que los LCPUFA n-3 parecen ejercer efectos diferentes sobre los lípidos plasmáticos.

Considerando estos y otros estudios, la opinión del Panel NDA de EFSA es que la ingesta de complementos de EPA y DHA combinados de 2-6 g/día, así como la ingesta de suplementos con un contenido mayoritario de DHA de 2-4 g/día resultan en un incremento de las concentraciones de LDL-colesterol de alrededor de un 3 %, y este incremento está acompañado por un descenso en la concentración de triglicéridos, sin cambios en la concentración de colesterol total (o no-HDL). También destaca que la ingesta de cantidades suplementarias mayoritariamente de EPA a dosis de hasta 4 g/día no tiene efectos significativos sobre la concentración de LDL-colesterol. De acuerdo con la consideración del Panel NDA de EFSA, el pequeño incremento en la concentración de LDL-colesterol asociado con la suplementación

de EPA y DHA combinados o con DHA solo a las dosis mencionadas no parece ser adverso en relación con el riesgo cardiovascular (EFSA, 2012).

Peroxidación lipídica y daño oxidativo

Con respecto de los efectos de EPA y DHA sobre la peroxidación lipídica y el daño oxidativo, algunos estudios en animales de laboratorio han mostrado resultados confusos debido a la presencia de productos de oxidación primaria y secundaria en los suplementos administrados sin la presencia de antioxidantes. Sin embargo, este efecto no se observó cuando se administraban en presencia de vitamina E (IoM, 2005) (VKM, 2011). Por otra parte, la mayoría de estudios de intervención en humanos ha utilizado aceite de pescado estabilizado con antioxidantes; sin embargo algunos estudios no han detallado si han utilizado o no antioxidantes. Solo en pocos estudios se ha descrito la presencia de productos de oxidación primaria y secundaria en los suplementos administrados.

En 10 estudios identificados de intervención en humanos con aceites ricos en LCPUFA n-3 y estabilizados con antioxidantes, utilizando aceites vegetales como control (oliva, maíz, girasol, cártamo o soja), se han medido los niveles plasmáticos o urinarios de F2-isoprostanos, como marcador de peroxidación lipídica (Mas et al., 2010) (VKM, 2011). Estos estudios usaron DHA solo (800 mg-4 g/día), EPA solo (1,6-4 g/día) o EPA y DHA en combinación como aceite de pescado (2-4 g/día) durante 3-6 semanas. En la mitad de los estudios, se describió un descenso de las concentraciones plasmáticas o urinarias de F2-isoprostanos en el grupo suplementado con LCPUFA n-3 comparado con el grupo control (Higdon et al., 2000) (Mori et al., 2000) (Mori et al., 2003) (Barden et al., 2004) (Mas et al., 2010), mientras que en el resto de estudios no se describieron diferencias significativas entre grupos (Stier et al., 2001) (Engler et al., 2004) (Tholstrup et al., 2004) (Wu et al., 2006) (Himmelfarb et al., 2007).

Por otra parte, la oxidación de las LDL también está asociada con un mayor riesgo cardiovascular. Algunos estudios han analizado los efectos de la suplementación con EPA y DHA sobre las partículas de LDL oxidadas (medidas directamente en sangre) o sobre la susceptibilidad de oxidación de las LDL (medida realizada *ex vivo*). Según la opinión del Panel NDA de EFSA la medida empleada de susceptibilidad de oxidación de las LDL no es un método apropiado para determinar la peroxidación de las LDL (EFSA, 2012).

Los estudios que han analizado los efectos de la suplementación con EPA y DHA en forma de aceite de pescado o bien en forma de ésteres etílicos sobre la susceptibilidad de oxidación de las LDL han mostrado resultados diversos. Algunos estudios a corto plazo (4-6 semanas) han descrito un aumento en la susceptibilidad de oxidación de las LDL, mientras que intervenciones a largo plazo (6-16 semanas) a dosis de hasta 5 g/día no mostraron efecto sobre la susceptibilidad de oxidación de las LDL en comparación con el grupo control (la mayoría suplementados con aceites vegetales) (VKM, 2011). Por otra parte, dos estudios en los que la dieta se suplementó con salmón aportando 1,5 g/día y 2,9 g/día de EPA y DHA, respectivamente, (Seierstad et al., 2005) o con arenques que aportaban 1,2 g/día de EPA y DHA (Lindqvist et al., 2009), no mostraron efectos de la intervención sobre las concentraciones plasmáticas de LDL oxidadas en comparación con los controles.

Con respecto a otros posibles marcadores de oxidación lipídica, la suplementación con EPA y DHA a dosis de hasta 4,5 g/día no se ha visto que afecte varias medidas utilizadas tradicionalmente para determinar la peroxidación lipídica, tales como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), malondial-

dehído (MDA), dienos conjugados o hidroperóxidos lipídicos (VKM, 2011). Si bien el Panel NDA de EFSA destaca que estos parámetros no son marcadores fiables de peroxidación lipídica *in vivo* (EFSA, 2011).

En conclusión, de acuerdo con la opinión del Panel NDA de EFSA, ingestas suplementarias de EPA y DHA consumidos bien solos o en combinación, a dosis de hasta 5 g/día durante un periodo de hasta 16 semanas, no induce cambios en la peroxidación lipídica, lo cual podría causar preocupación en relación con el riesgo de ECV, siempre y cuando la estabilidad oxidativa de estos LCPUFA n-3 esté garantizada (EFSA, 2012).

Función inmune

Respecto de los efectos sobre la función inmune, hay algunas indicaciones procedentes de estudios *ex vivo* e *in vitro* realizados en células blancas de sangre periférica procedente de individuos consumiendo LCPUFA n-3, que dichos ácidos grasos pueden disminuir la expresión de citoquinas y la proliferación de dichas células sanguíneas a dosis tan bajas como 0,9 mg/día de EPA y 0,6 mg/día de DHA consumidos en forma de aceite de pescado durante 6-8 semanas (IoM, 2005). Ahora bien, la relevancia de estos cambios *in vivo* no se conoce. Por otra parte, no existen estudios de intervención en humanos disponibles que hayan investigado los efectos de LCPUFA n-3 sobre el riesgo de infecciones *in vivo*. Si bien, un metaanálisis reciente de 18 ensayos controlados aleatorios muestra un descenso significativo en las concentraciones de la molécula de adhesión intercelular soluble -1 (sICAM-1) como efecto de la suplementación con LCPUFA n-3 (dosis de 0,272 a 6,6 g/día) pero no muestra efectos sobre marcadores de inflamación vascular (Yang et al., 2012).

En vista de estos estudios, el Panel NDA de EFSA considera que una ingesta suplementaria de EPA y DHA de hasta 5 g/día es improbable que induzca cambios en la función inmune. El Panel también destaca que los datos disponibles son insuficientes para concluir si las mismas dosis administradas mayoritariamente en forma de EPA o de DHA tendrían diferentes efectos (EFSA, 2012).

4.4.5 Conclusión

Con la información disponible, el Comité Científico concluye que no hay suficientes evidencias científicas que relacionen un elevado consumo de EPA y DHA con el desarrollo de efectos adversos y, por tanto, comparte la opinión emitida por el Panel Científico NDA de EFSA (EFSA, 2012) de no establecer niveles máximos de ingesta total para el EPA y DHA, ni de forma combinada ni de forma individual, y de que la ingesta de suplementos de EPA y DHA combinados a dosis de hasta 5 g/día, o bien la ingesta de suplementos de EPA de forma individual de hasta 1,8 g/día, no plantea problemas de seguridad para la población adulta. También considera que tomas suplementarias de DHA de forma individual de hasta aproximadamente 1 g/día no plantean problemas de seguridad para la población en general. Es destacable que los datos de ingesta de EPA y DHA procedente de alimentos y de los complementos alimenticios en las poblaciones europeas, incluyendo España, están generalmente por debajo de estas cantidades.

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima de 3 g/día de la combinación de EPA y DHA es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como ingredientes de complementos alimenticios.

Por otra parte, considerando que la familia de ácidos grasos n-3 es susceptible de oxidación, es recomendable que se asegure la estabilidad del producto final.

Referencias

- Amiano, P., Dorronsoro, M., de Renobales, M., Ruiz de Gordo, J.C. e Irigoien, I. (2001). Very-long-chain omega-3 fatty acids as markers for habitual fish intake in a population consuming mainly lean fish: the EPIC cohort of Gipuzkoa. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. European Journal of Clinical Nutrition*, 55, pp: 827-832.
- Balk, E.M., Lichtenstein, A.H., Chung, M., Kupelnick, B., Chew, P. y Lau, J. (2006). Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: a systematic review. *Atherosclerosis*, 189, pp: 19-30.
- Bang, H.O., Dyerberg, J. y Nielsen, A.B. (1971). Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic West-coast Eskimos. *Lancet*, 1, pp: 1.143-1.145.
- Barden, A.E., Mori, T.A., Dunstan, J.A., Taylor, A.L., Thornton, C.A., Croft, K.D., Beilin, L.J. y Prescott, S.L. (2004). Fish oil supplementation in pregnancy lowers F2-isoprostanes in neonates at high risk of atopy. *Free Radical Research*, 38, pp: 233-239.
- Bélgica (1992). Arrêté royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriment et de denrées alimentaires auxquelles des nutriment ont été ajoutés (Mon. 15. IV.1992).
- De Caterina, R., Madonna, R., Bertolotto, A. y Schmidt, E.B. (2007). n-3 fatty acids in the treatment of diabetic patients: biological rationale and clinical data. *Diabetes Care*, 30, pp: 1.012-1.026.
- Dinamarca (2011). Lovtidende A. Bekendtgørelse om tilsætning af visse andre stoffer end vitaminer og mineraler til fødevarer. Udgivet den 13 august 2011, Nr 888, 12 august 2011.
- EFSA (2009). European Food Safety Authority. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to EPA, DHA, DPA and maintenance of normal blood pressure (ID 502), maintenance of normal HDL-cholesterol concentrations (ID 515), maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 517), maintenance of normal LDL-cholesterol concentrations (ID 528, 698) and maintenance of joints (ID 503, 505, 507, 511, 518, 524, 526, 535, 537) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 7 (9):1.263, pp: 26.
- EFSA (2010a). European Food Safety Authority. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *The EFSA Journal*, 8 (3):1.461, pp: 107.
- EFSA (2010b). European Food Safety Authority. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to docosahexaenoic acid (DHA) and maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 533, 691, 3150), protection of blood lipids from oxidative damage (ID 630), contribution to the maintenance or achievement of a normal body weight (ID 629), brain, eye and nerve development (ID 627, 689, 704, 742, 3148, 3151), maintenance of normal brain function (ID 565, 626, 631, 689, 690, 704, 742, 3148, 3151), maintenance of normal vision (ID 627, 632, 743, 3149) and maintenance of normal spermatozoa motility (ID 628) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 8 (10):1734, pp: 27.
- EFSA (2010c). European Food Safety Authority. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA), docosapentaenoic acid (DPA) and maintenance of normal cardiac function (ID 504, 506, 516, 527, 538, 703, 1128, 1317, 1324, 1325), maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 566), maintenance of normal blood pressure (ID 506, 516, 703, 1317, 1324), maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 506), maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 506, 527, 538, 1317, 1324, 1325), maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 527, 538, 1317, 1325, 4689), protection of the skin from photo-oxidative (UV-induced) damage (ID 530), improved absorption of EPA and DHA (ID 522, 523), contribution to the normal function of the immune system by decreasing the levels of eicosanoids, arachidonic acid-derived

- mediators and pro-inflammatory cytokines (ID 520, 2914), and "immunomodulating agent" (4690) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 8 (10):1.796, pp: 32.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Guidance on the scientific requirements for health claims related to antioxidants, oxidative damage and cardiovascular health. *The EFSA Journal*, 9 (12):2.474, pp: 13.
- EFSA (2012). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). *The EFSA Journal*, 10 (7):2.815, pp: 48.
- Engler, M.M., Engler, M.B., Malloy, M., Chiu, E., Besio, D., Paul, S., Stuehlinger, M., Morrow, J., Ridker, P., Rifai, N. y Mietus-Snyder, M. (2004). Docosahexaenoic acid restores endothelial function in children with hyperlipidemia: results from the EARLY study. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 42, pp: 672-679.
- Hartweg, J., Farmer, A.J., Holman, R.R. y Neil, A. (2009). Potential impact of omega-3 treatment on cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Current Opinion in Lipidology*, 20, pp: 30-38.
- Hartweg, J., Perera, R., Montori, V., Dinneen, S., Neil, H.A. y Farmer, A. (2008). Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1, pp: CD003205.
- He, K., Rimm, E.B., Merchant, A., Rosner, B.A., Stampfer, M.J., Willett, W.C. y Ascherio, A. (2002). Fish consumption and risk of stroke in men. *Journal of the American Medical Association*, 288, pp: 3.130-3.136.
- Higdon, J.V., Liu, J., Du, S.H., Morrow, J.D., Ames, B.N. y Wander, R.C. (2000). Supplementation of postmenopausal women with fish oil rich in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid is not associated with greater in vivo lipid peroxidation compared with oils rich in oleate and linoleate as assessed by plasma malondialdehyde and F(2)-isoprostanes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72, pp: 714-722.
- Himmelfarb, J., Phinney, S., Ikizler, T.A., Kane, J., McMonagle, E. y Miller, G. (2007). Gamma-tocopherol and docosahexaenoic acid decrease inflammation in dialysis patients. *Journal of Renal Nutrition*, 17, pp: 296-304.
- Hooper, L., Thompson, R.L., Harrison, R.A., Summerbell, C.D., Moore, H., Worthington, H.V., Durrington, P.N., Ness, A.R., Capps, N.E., Davey Smith, G., Riemersma, R.A. y Ebrahim, S.B. (2004). Omega 3 fatty acids for prevention and treatment of cardiovascular disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4, pp: CD003177.
- IoM (2005). Institute of Medicine. En libro: *Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids*. National Academies Press, Washington DC, pp: 1-1357.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Jacobson, T.A., Glickstein, S.B., Rowe, J.D. y Soni, P.N. (2011). Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on low-density lipoprotein cholesterol and other lipids: a review. *Journal of Clinical Lipidology*, 6, pp: 5-18.
- Kinsella, J.E., Lokesh, B., Broughton, S. y Whelan, J. (1990). Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoids: potential effects on the modulation of inflammatory and immune cells: an overview. *Nutrition*, 6, pp: 24-44.
- Kohli, P. y Levy, B.D. (2009). Resolvins and protectins: mediating solutions to inflammation. *British Journal of Pharmacology*, 158, pp: 960-971.
- Lindqvist, H.M., Langkilde, A.M., Undeland, I. y Sandberg, A.S. (2009). Herring (*Clupea harengus*) intake influences lipoproteins but not inflammatory and oxidation markers in overweight men. *British Journal of Pharmacology*, 101, pp: 383-390.
- Mas, E., Woodman, R.J., Burke, V., Puddey, I.B., Beilin, L.J., Durand, T. y Mori, T.A. (2010). The omega-3 fatty acids EPA and DHA decrease plasma F(2)-isoprostanes: Results from two placebo-controlled interventions. *Free Radical Research*, 44, pp: 983-990.
- Miles, E.A. y Calder, P.C. (2012). Influence of marine n-3 polyunsaturated fatty acids on immune function and a systematic review of their effects on clinical outcomes in rheumatoid arthritis. *The British Journal of Nutrition*, 107 Supplement 2, pp: S171-S184.
- Mori, T.A., Puddey, I.B., Burke, V., Croft, K.D., Dunstan, D.W., Rivera, J.H. y Beilin, L.J. (2000). Effect of omega 3 fatty acids

- on oxidative stress in humans: GC-MS measurement of urinary F2-isoprostane excretion. *Redox Report*, 5, pp: 45-46.
- Mori, T.A., Woodman, R.J., Burke, V., Puddey, I.B., Croft, K.D. y Beilin, L.J. (2003). Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on oxidative stress and inflammatory markers in treated-hypertensive type 2 diabetic subjects. *Free Radical Biology & Medicine*, 35, pp: 772-781.
- Schmidt, E.B., Varming, K., Ernst, E., Madsen, P. y Dyerberg, J. (1990). Dose-response studies on the effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on lipids and haemostasis. *Thrombosis and Haemostasis*, 63, pp: 1-5.
- Seierstad, S.L., Seljeflot, I., Johansen, O., Hansen, R., Haugen, M., Rosenlund, G., Froyland, L. y Arnesen, H. (2005). Dietary intake of differently fed salmon; the influence on markers of human atherosclerosis. *European Journal of Clinical Investigation*, 35, pp: 52-59.
- Skerrett, P.J. y Hennekens, C.H. (2003). Consumption of fish and fish oils and decreased risk of stroke. *Preventive Cardiology*, 6, pp: 38-41.
- Stier, C., Schweer, H., Jelinek, J., Watzler, B., Seyberth, H.W. y Leonhardt, A. (2001). Effect of preterm formula with and without long-chain polyunsaturated fatty acids on the urinary excretion of F2-isoprostanes and 8-epi-prostaglandin F2alpha. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 32, pp: 137-141.
- Tanaka, K., Ishikawa, Y., Yokoyama, M., Origasa, H., Matsuzaki, M., Saito, Y., Matsuzawa, Y., Sasaki, J., Oikawa, S., Hishida, H., Itakura, H., Kita, T., Kitabatake, A., Nakaya, N., Sakata, T., Shimada, K. y Shirato, K. (2008). Reduction in the recurrence of stroke by eicosapentaenoic acid for hypercholesterolemic patients: subanalysis of the JELIS trial. *Stroke*, 39, pp: 2.052-2.058.
- Tholstrup, T., Hellgren, L.I., Petersen, M., Basu, S., Straarup, E.M., Schnohr, P. y Sandstrom, B. (2004). A solid dietary fat containing fish oil redistributes lipoprotein subclasses without increasing oxidative stress in men. *The Journal of Nutrition*, 134, pp: 1.051-1.057.
- Vanschoonbeek, K., de Maat, M.P. y Heemskerck, J.W. (2003). Fish oil consumption and reduction of arterial disease. *The Journal of Nutrition*, 133, pp: 657-660.
- Violi, F., Pignatelli, P. y Basili, S. (2010). Nutrition, supplements, and vitamins in platelet function and bleeding. *Circulation*, 121, pp: 1.033-1.044.
- VKM (2011). Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Opinion of the Steering Committee of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety: Evaluation of negative and positive health effects of n-3 fatty acids as constituents of food supplements and fortified foods. Doc. No.: 08-707-final, pp: 1-88.
- Wei, M.Y. y Jacobson, T.A. (2011). Effects of eicosapentaenoic acid versus docosahexaenoic acid on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. *Current Atherosclerosis Report*, 13, pp: 474-483.
- Wu, W.H., Lu, S.C., Wang, T.F., Jou, H.J. y Wang, T.A. (2006). Effects of docosahexaenoic acid supplementation on blood lipids, estrogen metabolism, and in vivo oxidative stress in postmenopausal vegetarian women. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60, pp: 386-392.
- Yang, Y., Lu, N., Chen, D., Meng, L., Zheng, Y. y Hui, R. (2012). Effects of n-3 PUFA supplementation on plasma soluble adhesion molecules: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95, pp: 972-980.
- Yokoyama, M., Origasa, H., Matsuzaki, M., Matsuzawa, Y., Saito, Y., Ishikawa, Y., Oikawa, S., Sasaki, J., Hishida, H., Itakura, H., Kita, T., Kitabatake, A., Nakaya, N., Sakata, T., Shimada, K. y Shirato, K. (2007). Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet*, 369, pp: 1.090-1.098.

5. Aminoácidos y otros compuestos nitrogenados

5.1 Aminoácidos ramificados (L-isoleucina + L-leucina + L-valina)

5.1.1 Propuesta

La AESAN propone una cantidad máxima diaria de la suma de L-isoleucina, L-leucina y L-valina de 5 g. Dicha propuesta se basa en la autorización en Italia de una cantidad máxima de ingesta de referencia de 5 g/día de la suma de L-leucina, L-isoleucina y L-valina, con la advertencia de que no debe ser consumido por mujeres embarazadas, niños, ni durante periodos prolongados de tiempo sin control médico (Italia, 2012).

5.1.2 Características y fuentes

Los aminoácidos de cadena ramificada son la L-leucina, L-isoleucina y L-valina. Son aminoácidos alifáticos ramificados, de carácter hidrofóbico, muy estables y que apenas se ven afectados por los procesos que se llevan a cabo en la industria alimentaria. Se trata de aminoácidos esenciales, pero que al suponer casi el 50 % del total de aminoácidos esenciales presentes en los alimentos proteicos, nunca son los limitantes del valor nutritivo de las proteínas. Dado que constituyen el 35 % de los aminoácidos esenciales de las proteínas musculares, cualquier alimento proteico de origen animal es una buena fuente (Harper et al., 1984).

EFSA ha publicado una opinión científica relativa a la verificación de declaraciones de salud relativas a los aminoácidos de cadena ramificada: i) crecimiento y mantenimiento de la masa muscular; ii) recuperación más rápida de la fatiga muscular tras el ejercicio; iii) atenuación de la disminución de la fuerza muscular que tiene lugar tras el ejercicio en altitud; iv) mejora del sistema inmune; v) mejora de la función cognitiva tras el ejercicio; y vi) reducción del cansancio percibido tras el ejercicio. Basándose en la información presentada, el Panel NDA de EFSA no ha podido establecer en ningún caso una relación causa efecto (EFSA, 2010).

5.1.3 Nutrición y metabolismo

Los aminoácidos de cadena ramificada son potentes reguladores del recambio proteico, permiten obtener energía en ejercicios de alta intensidad, en ausencia de glucógeno, disminuyen el síndrome de fatiga central en el ejercicio intenso, pueden regular el metabolismo de la glucosa, son importantes para el mantenimiento de la función inmunitaria y se han utilizado para la mejora de la cirrosis hepática, la encefalopatía hepática, la supervivencia de los trasplantes hepáticos y en la mejora en las sepsis y politraumatismos (Baker, 2005) (Cynober y Harris, 2006) (Zhang et al., 2011).

El metabolismo de estos aminoácidos se lleva a cabo fundamentalmente en el músculo y supone reacciones de transaminación y posterior descarboxilación oxidativa. Finalmente, cada uno de ellos entra a distintos niveles del ciclo de Krebs.

A pesar de las técnicas modernas utilizadas en los estudios de balance y oxidación de estos aminoácidos, todavía están en discusión las recomendaciones de consumo para adultos sanos. Otro problema importante, que dificulta el establecimiento de recomendaciones es conocer cómo los requerimientos de un determinado aminoácido de cadena ramificada afecta a los de los otros dos. No obstante, en el informe conjunto de la FAO/OMS/UNU se establece como requerimiento diario de L-leucina 39 mg/kg

p.c./día (OMS, 2007). Además, en base a que los tres aminoácidos de cadena ramificada comparten rutas catabólicas oxidativas comunes, a que sus requerimientos diarios reflejan fundamentalmente sus niveles catabólicos basales y a los contenidos de los tres aminoácidos en la composición de las proteínas corporales, se pueden calcular los requerimientos diarios de L-isoleucina y L-valina en función del establecido para la L-leucina. Estos valores son 20 y 26 mg/kg p.c./día, respectivamente (OMS, 2007). Sin embargo, a pesar de lo señalado hasta ahora y de los numerosos estudios existentes sobre la suplementación con aminoácidos de cadena ramificada, en diversas situaciones fisiológicas y patológicas, todavía no existe un consenso de cuáles son las dosis adecuadas de aminoácidos de cadena ramificadas a ingerir como complementos alimenticios (Cynober y Harris, 2006).

5.1.4 Seguridad

Los estudios de toxicidad aguda y subaguda en ratas usando aminoácidos de cadena ramificada (en la proporción 2,1:1:1,2 para L-leucina:L-isoleucina:L-valina) indican que la dosis media letal aguda es superior a 10 g de aminoácidos de cadena ramificada/kg p.c. (Okazaki et al., 1989). Los estudios de toxicidad crónica, en ratas, indican que dosis de 2,5 g/kg p.c./día durante 3 meses o 1,25 g/kg p.c./día durante 1 año, no tuvieron efecto tóxico alguno (Okazaki et al., 1989).

En humanos, la mayoría de los estudios de suplementación deportiva han usado dosis superiores a 5 g totales de aminoácidos de cadena ramificada, sin encontrar efectos tóxicos (Shimomura et al., 2004). Incluso hay un estudio en los que se administra hasta un total de 14,4 g de aminoácidos de cadena ramificada, durante 30 días, sin que se vean efectos perjudiciales para la salud (DeLorenzo et al., 2003). Además, su uso por vía enteral, a dosis de 240 mg/kg p.c./día durante 6 meses, en pacientes con encefalopatía hepática, sepsis o politraumatismos, no produjo toxicidad o efecto adverso alguno (Baker, 2005). No obstante, hay un trabajo realizado en cinco personas, en el que una única dosis aguda de 5 g de aminoácidos de cadena ramificada (en las proporciones 1:2,3:1,2 para la L-isoleucina:L-leucina:L-valina) produce una disminución de los contenidos de L-metionina y aminoácidos aromáticos. Además, se observa un aumento transitorio de los niveles plasmáticos de insulina, sin que esto afecte a la glucemia o a los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres (Zhang et al., 2011).

Finalmente, el Comité Científico de la Agencia Noruega de Seguridad Alimentaria (VKM, 2011) establece que los aminoácidos de cadena ramificada presentan un riesgo moderado. Entendiendo como tal cuando se producen cambios en los biomarcadores, pero sin que haya efectos perjudiciales para la salud. Además, no establece un nivel máximo tolerable de ingesta, debido a que no existen estudios de toxicidad en humanos para sentar esas bases. Por otro lado, el Ministerio de Trabajo, Salud y Políticas Sociales de Italia (Italia, 2012), basándose en los estudios realizados por Zhang y sus colaboradores, establece una cantidad máxima de ingesta de referencia de aminoácidos de cadena ramificada de 5 g/día, con la advertencia de que no debe ser consumido por mujeres embarazadas, niños, ni durante periodos prolongados de tiempo sin control médico (Zhang et al., 2011).

5.1.5 Conclusión

El Comité Científico considera que, aunque no existen trabajos de toxicidad en humanos, los estudios de toxicidad en distintos modelos de animales de experimentación, así como los llevados a cabo en huma-

nos con la administración de una sola dosis, señalan que niveles de ingesta de hasta tres veces superiores a las recomendaciones de consumo, en sujetos adultos sanos, son bien tolerados. Por lo tanto, el Comité Científico concluye, que en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, una cantidad máxima diaria de 5 g de la suma de L-isoleucina, L-leucina y L-valina es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Además, entiende que al igual que ocurre en Italia, estos aminoácidos no deben ser consumidos por mujeres embarazadas, niños, ni durante periodos prolongados de tiempo sin control médico.

Referencias

- Baker, H.D. (2005) Tolerance for branched-chain amino acids in experimental animals and humans. *Journal of Nutrition*, 135, pp: 1.585S-1.590S.
- Cynober, L. y Harris, R.A. (2006). Branched-chain amino acids: metabolism, physiological function and application. *Journal of Nutrition*, 136, pp: 333S-336S.
- DeLorenzo, A., Petroni, M.L., Masala, S., Melchiorri, G., Pietrantonio, M., Perriello, G. y Andreoli, A. (2003). Effect of acute and chronic branched-chain amino acids on energy metabolism and muscle performance. *Diabetes, Nutrition and Metabolism*, 16, pp: 291-297.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to branched-chain amino acids (BCAA) and growth or maintenance of muscle mass (ID 442, 444, 445, 447, 448, 451, 1478), attenuation of the decline in muscle power following exercise at high altitude (ID 443), faster recovery from muscle fatigue after exercise (ID 447, 448, 684,1478), improvement of cognitive function after exercise (ID 446), reduction in perceived exertion during exercise (ID 450) and "healthy immune system" (ID 449) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 8, pp: 1.814.
- Harper, A.E., Miller, R.H. y Block, K.P. (1984). Branched chain amino acid metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 4, pp: 409-454.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiológico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 27-11-12].
- Okazaki, S., Hatakeyama, K., Tamura, K., Tsufuhisa, S. y Shiotani, S. (1989). Acute and subacute toxicity study of BCAA in rats. *Clinical reports*, 23, pp: 1.843-1.862.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- Shimomura, Y., Murakami, T., Nakai, N., Nagasaki, M. y Harris, R.A. (2004). Exercise promotes BCAA catabolism: effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise. *Journal of Nutrition*, 134, pp: 1.583S-1.587S.
- VKM (2011). Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Risk categorisation of 30 amino acids and amino acid compounds. Disponible en: http://www.english.vkm.no/eway/default.aspx?pid=278&trg=Content_6444&Main_6359=6582:0:31,2557&6606=6597:4&Content_6444=6393:1899169::0:6597:24::0:0 [acceso: 14-03-12].
- Zhang, Y., Kobayashi, H., Matawari, K., Sato, J., Bajotto, G., Kitaura, Y. y Shimomura, Y. (2011). Effects of branched-chain amino acids supplementation on plasma concentration of free amino acids, insulin and energy substrates in young men. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 57, pp: 114-117.

5.2 Ácido L-glutámico

5.2.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión del ácido L-glutámico en el Real Decreto 1487/2009 sin especificar una cantidad máxima diaria. La propuesta basa en que el Reglamento (CE) N° 953/2009 (UE, 2009) incluye al ácido L-glutámico entre las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial.

5.2.2 Características y fuentes

El ácido L-glutámico es un ácido dicarboxílico, conocido también como ácido 2-aminopentanodioico o ácido 2-aminoglutárico. Su fórmula química es $C_5H_9NO_4$. Se trata de un aminoácido ramificado, con una cadena ácida. Las sales del ácido L-glutámico, así como su anión carboxilado se conocen como glutamato y es de esta forma como se encuentra a pH fisiológico.

En los alimentos se encuentra en forma libre o unido a otros aminoácidos formando proteínas. Las fuentes alimentarias del ácido L-glutámico más importantes son las carnes, aves, pescados, huevos, productos lácteos, algunos vegetales (tomates, champiñones, guisantes y brócolis) y el trigo. La forma libre es la responsable del incremento del sabor en los alimentos (Kulkarni et al., 2005). El ácido L-glutámico también se puede consumir como aditivo alimentario en forma de glutamato monosódico, glutamato cálcico, glutamato potásico y glutamato amónico.

5.2.3 Nutrición y metabolismo

El ácido L-glutámico es un aminoácido no esencial, que se puede obtener a partir de la glucosa mediante el ciclo de Krebs. También se puede sintetizar mediante la transaminación del alfa-cetoglutarato que acepta grupos aminos de otros aminoácidos (Pamela, 1994) (Hardman et al., 2001).

El ácido L-glutámico es absorbido en el intestino delgado mediante un sistema de transporte activo específico para aminoácidos (Schultz et al., 1970). Posteriormente puede sufrir: i) una transaminación para formar alfa-cetoglutarato y aspartato; ii) una desaminación oxidativa en el hígado con la liberación del amonio libre y su posterior incorporación al ciclo de la urea; y iii) una descarboxilación para formar GABA (ácido gamma-aminobutírico) (Garattini, 2000).

El ácido L-glutámico tiene un papel central en el metabolismo del nitrógeno y es un importante neurotransmisor. Además, interviene en la síntesis de proteínas (aminoácido proteínogénico) y en la fisiología del sabor.

Se ha calculado que el consumo habitual medio de ácido L-glutámico en un varón adulto de 70 kg es de 28 g diarios. Este valor proviene de la dieta y de la rotura de las proteínas intestinales. El recambio diario de ácido L-glutámico es de 48 g. A pesar de que el recambio es alto, las reservas medias de ácido L-glutámico están en torno a 20 mg. Eso es debido a su rápida utilización por diversos tejidos, especialmente el hígado y el músculo (Munro, 1979).

El Programa Internacional para la Seguridad Química (IPCS, *International Programme on Chemical Safety*) y de acuerdo con lo que publicó el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (OMS, 1974) establece que el consumo diario de ácido L-glutámico debería ser de 0-120 mg/kg p.c. Esta recomendación es independiente de la fuente de ácido L-glutámico, incluyendo el presente en los alimentos, el glutamato monosódico, el glutamato potásico, el glutamato cálcico y el glutamato amónico.

5.2.4 Seguridad

Los trabajos de mutagenicidad no mostraron, en cultivos celulares, ningún efecto cuando se añadió al medio de cultivo glutamato monosódico al 0,1 %, durante 72 horas (FDA, 1969). La administración oral en ratas, desde 2 semanas antes del inicio de la gestación y durante todo el período de lactancia, de glutamato monosódico (hasta 7 g/kg p.c./día) no mostró efecto alguno sobre la reproducción y el desarrollo embrionario (McColl et al., 1965).

Los estudios de toxicidad aguda llevados a cabo en animales de experimentación (ratón, rata, cobaya y conejo) indican que la DL_{50} es de 6,9-15,0 g/kg p.c. cuando se administra por vía intraperitoneal (Yanigisawa et al., 1961) y de 12,9-30,0 g/kg p.c. cuando se administra por vía oral (Izeki, 1964).

La administración de ácido L-glutámico de hasta un 4 % en la dieta, durante 1 año, en ratones y ratas no produjo ninguna alteración (Little, 1953a, 1953b).

En cuanto a los posibles efectos neurotóxicos del ácido L-glutámico, cuando éste se suministra por vía oral a dosis altas (0,7 g/kg p.c. en ratones lactantes y 1,2 g/kg p.c. en ratones adultos) y de un modo agudo se produce una degeneración neuronal (Takasaki et al., 1979). Este estudio también señala que los ratones neonatos son más susceptibles a la ingesta de altas dosis de glutamato. No obstante, no se observan efectos neurotóxicos cuando el ácido L-glutámico se suministra durante largos períodos de tiempo incorporado en la comida de los animales de experimentación a dosis incluso superiores a las que produce un efecto neurotóxico cuando se suministra aisladamente (Heywood et al., 1977). En humanos los efectos neurotóxicos no existen, ya que la administración de dosis máximas palatables de glutamato monosódico producen un incremento en los niveles plasmáticos de ácido L-glutámico de hasta 40 veces inferior al que ocurre en los roedores (Salmona et al., 1980). A esto hay que añadir que, en roedores, incrementos de hasta 10 veces en los niveles plasmáticos de ácido L-glutámico, no inducen aumentos en los contenidos totales de ácido L-glutámico en el cerebro, aunque esto no excluye que se pueda acumular en partes concretas del mismo (Garattini, 2000). En este sentido, la administración oral a ratas de 4 g de glutamato/kg p.c. induce un incremento en la concentración hipotalámica de ácido L-glutámico de hasta nueve veces. Sin embargo, ese incremento es uno o dos órdenes de magnitud inferior al necesario para inducir neurotoxicidad (Sohn et al., 1998).

Actualmente, se sabe que el ácido L-glutámico es seguro para la población general (Kulkarni et al., 2005). Sin embargo, dosis de entre 1,5-12 g de ácido L-glutámico, en una sola comida, producen a los 15-25 minutos de su ingesta, una serie de efectos adversos como sensación de quemazón, opresión y/o adormecimiento en el pecho, que se puede extender al cuello, cara, hombros y brazos. También pueden aparecer mareos, dolor de cabeza, náuseas y vómitos (Kulkarni et al., 2005).

5.2.5 Conclusión

El Comité Científico considera que el ácido L-glutámico se halla presente en los alimentos proteicos de la dieta, posee un nivel bajo de toxicidad y solo por encima de 1,5 g se detectan efectos adversos. Por tanto el Comité concluye que una cantidad máxima de 1 g/día es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como ingrediente en los complementos alimenticios.

Referencias

- FDA (1969). Food and Drug Administration. Report on monosodium glutamate for review by Food Protection Committee, NAS/NRC, Washington, D.C.
- Garattini, S. (2000). Glutamic acid, twenty years later. *Journal of Nutritional*, 130, pp: 901S-909S.
- Hardman, J.G., Limbird, L.E. y Gilman, A.G. (2001). The pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. McGraw-hill Medical Publishing Division.
- Heywood, R., James, R.W. y Worden, A.N. (1977). The ad libitum feeding of monosodium glutamate to weanling mice. *Toxicology Letters*, 1, pp: 151-155.
- Izeki, T. (1964). Report of the Osaka Municipal Hygienic Laboratory, 23, pp: 1-82.
- Kulkarni, C., Kulkarni, K.S. y Hamsa, B.R. (2005). L-glutamic acid and glutamine: exciting molecules of clinical interest. *Indian Journal of Pharmacology*, 37, pp: 148-154.
- Little, A.D. (1953a). Report to International Mineral and Chemical Corporation dated 13 January 1953.
- Little, A.D. (1953b). Report to International Mineral and Chemical Corporation dated 15 March 1953.
- McColl, J.D., Globus, M. y Robinson, S. (1965). An attempted reversal of thalidomide embryopathy in the rat by glutamic acid. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 43, pp: 69-73.
- Munro, H.N. (1979). Factors in the regulation of glutamate metabolism. En libro: *Glutamic acid: Advances in Biochemistry*, Raven Press, pp: 55-68.
- OMS (1974). Organización Mundial de la Salud. Joint FAO/WHO/Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Reports Series 539.
- Pamela, C.C. (1994). En libro: *Biochemistry*. 2nd ed. Lippincott Williams and Wilkins.
- Salmona, M., Ghezzi, P., Garattini, S. Parini, R. y Assael, B.M. (1980). Plasma glutamic acid levels in premature newborn. *Toxicology Letters*, 5, pp: 197-201.
- Schultz, S.G., Yu-Tu, L., Alvarez, O.O. y Curran, P.F. (1970). Dicarboxylic amino acid influx across brush border of rabbit ileum. *The Journal of General Physiology*, 56, pp: 621-639.
- Sohn, S., Kim, E. y Gwag, B.J. (1998). Glutamate neurotoxicity in mouse cortical neurons: atypical necrosis with DNA ladders and chromatin condensation. *Neuroscience Letters*, 240, pp: 147-150.
- Takasaki, Y., Matsuzawa, Y., Iwata, S., O'Hara, Y., Yonetani, S. e Ichimura, M. (1979). Toxicological studies of monosodium-L-glutamate in rodents: relationship between routes of administration and neurotoxicity. En libro: *Glutamic Acid. Advances in Biochemistry*. Filer et al., eds. Raven Press, pp: 255-275.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269 de 14 de octubre de 2009, pp: 9-19.
- Yanagisawa, K., Nakamura, T., Miyata, K., Kameda, T., Kitamura, S. e Ito, K. (1961). Nohon Seirigaku Zasshi. *The Physiological Society of Japan*, 23, pp: 1-383.

5.3 Beta-alanina

5.3.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto, la inclusión de beta-alanina en el Real Decreto 1487/2009 sin especificar una cantidad máxima diaria.

En Italia está autorizada la beta-alanina en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2012).

5.3.2 Características y fuentes

La beta-alanina (β -ALA) es un aminoácido no proteínogénico cuyo grupo amino se encuentra en posición beta en relación al grupo carboxilo. Es un componente de los péptidos naturales carnosina y anserina y también del ácido pantoténico. Se sintetiza *in vivo* por degradación del dihidrouracilo y de la carnosina. La β -ALA es un precursor limitante de la tasa de síntesis de la carnosina (EFSA, 2010).

La β -ALA desempeña varias funciones en el sistema nervioso, puede actuar como neurotransmisor o neuromodulador y tiene puntos de fijación en el hipocampo en receptores de NMDA, GABA-A, GABA-C y glicina para ayudar al aprendizaje de nueva información (Caruso et al., 2012).

La principal fuente dietética de β -ALA es el dipéptido carnosina que se encuentra en las proteínas de los alimentos de origen animal, carnes y derivados y pescado y derivados.

La β -ALA es uno de los nuevos complementos alimenticios que provoca entusiasmo entre los atletas, por la multitud de beneficios para la salud y el ejercicio que se le atribuyen, puede administrarse en disolución o en forma de polvo en cápsulas de gelatina y puede determinarse en los alimentos por métodos establecidos.

5.3.3 Nutrición y metabolismo

La β -ALA es un aminoácido presente de forma natural y junto a la L-histidina uno de los precursores de la carnosina, que se sintetiza a partir de β -ALA e L-histidina actuando como enzima la carnosina sintetasa. La β -ALA es el aminoácido limitante en la velocidad de síntesis de carnosina. Por su parte la carnosinasa, enzima presente en las células y el suero, hidroliza la carnosina a β -ALA y L-histidina (Culberstone et al., 2010) (Spradley et al., 2012).

En el organismo, la β -ALA se sintetiza por descomposición química de las pirimidinas, descarboxilación del L-aspartato por los microorganismos de la flora intestinal y transaminación del 3-oxopropanato por el L-aspartato (Caruso et al., 2012). La síntesis endógena de β -ALA tiene lugar en el hígado a partir de la degradación irreversible de timina, citosina y uracilo. Una vez sintetizada, la β -ALA se transporta a las células musculares donde atraviesa el sarcolema por un proceso que depende del Na^+ y Cl^- . La captación intracelular de β -ALA utiliza el mismo cotransportador que la glicina, taurina y GABA por lo que la suplementación con β -ALA afecta, por inhibición competitiva, la captación de dichas sustancias. Si bien las dosis de β -ALA que reducen los contenidos intracelulares de taurina superan en mucho a las administradas a los humanos, por lo que la preocupación relativa a que la administración de β -ALA comprometa las concentraciones intramusculares de taurina no es fundada (Caruso et al., 2012).

EFSA ha publicado una opinión científica relativa a la verificación de declaraciones saludables relativas a la β -ALA: i) aumento del rendimiento físico durante el ejercicio intenso en un corto periodo de tiempo; ii) aumento en el tiempo hasta el agotamiento; y iii) el incremento de las reservas musculares de car-

nosina. Sin embargo, basándose en la información presentada, el Panel de NDA de EFSA no ha podido establecer en ningún caso una relación causa-efecto. (EFSA, 2010).

5.3.4 Seguridad

Se ha observado que dosis de β -ALA superiores a los 10 mg/kg p.c. provocan un período de parestesia corto, cuya gravedad aumenta cuando lo hace la dosis. No obstante la parestesia no se produce, cuando se ingiere una dosis elevada, unos 40 mg/kg p.c. junto con la dieta. Se plantea la hipótesis según la cual la parestesia es consecuencia de un rápido aumento de la concentración plasmática de β -ALA cuando se ingiere sola, puesto que no ocurre cuando la β -ALA forma parte de una dieta que contenga derivados cárnicos y por tanto carnosina dipéptido con L-histidina (Harris et al., 2006).

Las precauciones a adoptar cuando se usa β -ALA como complemento alimenticio se deben a su potencial para inducir parestesia, que se caracteriza por un aumento de la sensibilidad de las neuronas nociceptivas transmisoras de dolor neuropático, que provoca enrojecimiento y sensación de picor en la piel (Harris et al., 2006) (Crozier et al., 2007) (Sale et al., 2010). La gravedad de los episodios de parestesia es dosis-dependiente, pero en general se mantiene en los 60 minutos que siguen a la ingestión (Harris et al., 2006). La gravedad de la parestesia lleva en algunos casos a reducir e incluso interrumpir la toma de β -ALA (Harris et al., 2006). Con objeto de detectar la parestesia resultante de una ingesta aguda de β -ALA, se administró a seis hombres dosis comprendidas entre 10 y 40 mg/kg p.c. La ingestión aguda a la dosis más baja provocó un enrojecimiento suave 20 minutos después de la ingesta y una parestesia importante se produjo con 20 mg/kg p.c. No se observan efectos secundarios con dosis de 40 mg/kg p.c. cuando la β -ALA se ingiere con extracto de carne de pollo, mientras que si dicha dosis se administra vía oral como complemento alimenticio provoca parestesia en algunos individuos. Ello indica que los episodios de parestesia dependen de la dosis y de la forma de administración. En el mismo artículo (Harris et al., 2006) se incluye la evaluación de la ingesta crónica de β -ALA por hombres sanos. Ensayan distintas formas de ingesta, en una de ellas ingieren 10 mg/kg p.c. tres veces al día durante 2 semanas observándose escasos efectos secundarios, que incluyen un enrojecimiento suave ocasional. En las otras dos estrategias las ingestas son de 3,2 y 6,4 g/día, que se administran en dosis de 400 y 800 mg a hombres sanos, durante 4 semanas. Estos protocolos produjeron unos pocos casos de parestesia leve y dolor en la garganta en un individuo. Concluyen que los síntomas similares a la parestesia empiezan a aparecer a dosis superiores a los 10 mg/kg p.c. La prevalencia y la gravedad de la parestesia está relacionada con los picos de β -ALA en sangre lo que aconsejaría la utilización de complementos de β -ALA de liberación gradual/retardada.

La cinética plasmática y la incidencia de síntomas similares a la parestesia se monitorizaron en un ensayo aleatorizado ciego sencillo que incluía el estudio de la liberación gradual en el tiempo de un complemento de β -ALA (Decombaz et al., 2011). Adultos sanos (n=11) recibieron tres tratamientos: 1,6 g de β -ALA vía oral de liberación gradual, la misma dosis administrada de la forma habitual (*bolus*), y un placebo. Durante las 6 horas que siguen a la administración de cada tratamiento se recogió orina y plasma y se pasó un cuestionario. Los resultados mostraron que la β -ALA de liberación gradual provocaba menores picos plasmáticos y daba lugar a *lag-time* más prolongados, así como una menor pérdida por la orina lo que indicaría una mayor retención de β -ALA. En la forma habitual de administración la β -ALA provocó síntomas similares a la parestesia, mientras que la forma de liberación gradual y el placebo se

comportaron de forma similar. En conclusión se pueden consumir mayores dosis absolutas de β -ALA de liberación gradual sin riesgo de parestesia (Decombaz et al., 2011).

5.3.5 Conclusión

El Comité Científico considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, las precauciones a adoptar cuando se utiliza la beta-alanina como complemento alimenticio se deben a su potencial para inducir parestesia.

Dado que dosis elevadas de beta-alanina (superiores a 10 mg/kg p.c./día) pueden producir parestesia se recomienda que las personas que sean predisuestas a ella se abstengan de tomar este complemento alimenticio.

Referencias

- Caruso, J., Charles, J., Unruh, K., Giebel, R., Learmonth, L. y Potter, W. (2012). Ergogenic Effects of β -Alanine and Carnosine: Proposed Future Research to Quantify Their Efficacy. *Nutrients*, 4, pp: 585-601.
- Crozier, R.A., Ajit, S.K., Kaftan, E.J. y Pausch, M.H. (2007). MrgD activation inhibits KCNQ/M-currents and contributes to enhanced neuronal excitability. *The Journal of Neuroscience*, 27, pp: 4.492-4.496.
- Culbertson, J.Y., Kreider, R.B., Greenwood, M. y Cooke, M. (2010). Effects of Beta-Alanine on Muscle Carnosine and Exercise Performance: A Review of the Current Literature. *Nutrients*, 2, pp: 75-98.
- Decombaz, J., Beaumont, M., Vuichoud, J., Bouisset, F. y Sterlingwerff, T. (2011). Effect of slow-release β -alanine tablets on absorption kinetics and paraesthesia. *Amino Acids*, doi: 10.1007/s00726-011-1169-7.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to beta-alanine and increase in physical performance during short-term high-intensity exercise (ID 436, 1453, 1454, 1459), increase in time to exhaustion (ID 437, 438, 439, 683, 1452, 1455, 1456, 1459) and increase in muscle carnosine stores (ID 1457, 1458) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/20061, *The EFSA Journal* 8 (10), pp: 1.729.
- Harris, R.C., Tallon, M.J., Dunnett, M., Boobis, L., Coakley, J., Kim, H.J., Fallowfield, J.L., Hill, C.A., Sale, C. y Wise, J.A. (2006). The absorption of orally supplied beta-alanine and its effect on muscle carnosine synthesis in human vastus lateralis. *Amino Acids*, 30, pp: 279-289.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiológico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 27-11-12].
- Sale, C., Saunders, B. y Harris, R.C. (2010). Effect of beta-alanine supplementation on muscle carnosine concentrations and exercise performance. *Amino Acids*, 39, pp: 321-333.
- Spradley, B.D., Crowley, K.R., Tai, C.Y., Kendall, K.L., Fukuda, D.H., Esposito, E.N., Moon, S.E. y Moon, J.R. (2012). Ingesting a pre-workout supplement containing caffeine, B-vitamins, amino acids, creatine, and beta-alanine before exercise delays fatigue while improving reaction time and muscular endurance. *Nutrition & Metabolism*, 9, doi:10.1186/1743-7075-9-28. Disponible en: <http://www.nutritionandmetabolism.com/content/9/1/28> [acceso: 27-11-12].

5.4 L-alanina

5.4.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión de la L-alanina en el Real Decreto 1487/2009 sin especificar una cantidad máxima diaria. La propuesta se basa en que el Reglamento (CE) N° 953/2009 que incluye a la L-alanina entre las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial (UE, 2009).

5.4.2 Características y fuentes

La L-alanina (ácido α -amino propiónico) es un aminoácido no esencial, hidrófobo, no polar y alifático. El hecho de que su carbono alfa esté unido al grupo metilo hace que sea uno de los alfa aminoácidos más simples. Su fórmula química es $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$.

La L-alanina es uno de los aminoácidos más abundantes en las proteínas y se encuentra presente en una gran cantidad de alimentos. Entre ellos destacan las carnes, pescados, mariscos, huevos y productos lácteos.

EFSA considera que es seguro utilizar la L-alanina como saborizante (EFSA, 2008).

5.4.3 Nutrición y metabolismo

La L-alanina desempeña un papel central en el metabolismo del nitrógeno y junto al glutamato y al aspartato es sustrato de las principales aminotransferasas que conectan directamente los aminoácidos con los cetoácidos intermediarios de la glucólisis y del ciclo de Krebs. Así pues, la L-alanina interviene en el ciclo alanina-glucosa, el cual permite al hígado obtener glucosa a partir de la degradación muscular. La glucosa obtenida se utiliza para la contracción muscular.

La L-alanina es liberada a la sangre por las células de la mucosa intestinal y del músculo esquelético como consecuencia de su síntesis a partir de otros aminoácidos y posteriormente, puede ser captada por el hígado para su transformación en glucosa.

Basándose en los datos de ingesta alimentaria en el período 1988-1994 (NHANES III) la ingesta media estimada de L-alanina procedente de alimentos y suplementos es de unos 3,6 g/día. La ingesta más elevada que se menciona, 8,5 g/día, corresponde al percentil 99 de hombres de entre 51 a 70 años de edad.

En Estados Unidos la base de datos de complementos alimenticios de la *National Library of Medicine* (NLH) recoge cerca de 40 complementos que contienen L-alanina en su composición (NLH, 2012). Las cantidades máximas diarias recomendadas de L-alanina van de los 10 mg a los 3,6 g diarios.

Los estudios de biodisponibilidad y de aclaración de L-alanina, llevados a cabo en sujetos sanos y con cirrosis hepática han demostrado que ambos parámetros son elevados (Schricker et al., 1995).

5.4.4 Seguridad

Estudios en animales y en humanos de ingesta alimentaria, crecimiento y cambios hematológicos como resultado de la toma de L-alanina vía oral no han proporcionado datos suficientes para proponer un LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) o un NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) (LSRO, 1992).

La ingesta de L-alanina no está asociada a efectos adversos graves (Garlick, 2004). En ratas con dietas pobres en proteínas se ha observado una ligera disminución en el crecimiento y en la ingesta de alimentos (Harper et al., 1970).

En animales, la L-alanina muestra una acción inhibitoria neural, así como hipotermogenicidad (Glyn y Lipton, 1981). No se dispone de datos adecuados para definir la relación dosis-respuesta de la L-alanina en los animales.

En los seres humanos no se mencionaron efectos secundarios patentes cuando se administró a 48 niños varones hasta 4 g de L-alanina en una disolución de rehidratación oral, durante 2 días (Da Costa Ribeiro y Lifshitz, 1991), o al proporcionar hasta 132 g de L-alanina, también en una disolución de rehidratación oral, durante 4 días a 20 niños varones menores de 1 año (Patra et al., 1989). En adultos tampoco se han mencionado efectos adversos tras una infusión intravenosa de hasta 35 g de L-alanina, durante 5 minutos (Genuth y Castro, 1974). En diversos estudios cargas orales de hasta 50 g de L-alanina no tienen otros efectos adversos que náuseas pasajeras y calambres abdominales (Genuth, 1973) (Koeslag et al., 1985a) (Koeslag et al., 1985b).

Los datos, muy escasos, sobre los efectos adversos de la ingesta de L-alanina procedente de suplementos dietéticos (Genuth, 1973) (Genuth y Castro, 1974) se consideran insuficientes para el cálculo de la dosis-respuesta y la propuesta deducción de un UL para la L-alanina.

No se han señalado pruebas de mutagenicidad cuando varias cepas de *E. coli* se incubaron con L-valina, L-histidina o L-tirosina a concentraciones de hasta 5.000 mg/placa sin activación metabólica (Fluck et al., 1976) (Martinez et al., 2000).

5.4.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la L-alanina presenta una baja toxicidad y que cantidades máximas diarias como las de complementos comercializados de otros países de hasta 3,6 g son aceptables desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Da Costa Ribeiro, H. y Lifshitz, F. (1991). Alanine-based oral rehydration therapy for infants with acute diarrhea. *Journal of Pediatrics*, 118, pp: S86-S90.
- EFSA (2008). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Amino acids from chemical group 34 Flavouring Group Evaluation 26, Revision 1 - Scientific opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in contact with Food (AFC). *The EFSA Journal*, 790, pp: 51.
- Fluck, E.R., Poirier, L.A. y Ruelius, H.W. (1976). Evaluation of a DNA polymerase deficient mutant of *E. coli* for the rapid detection of carcinogens. *Chemico-Biological Interactions*, 15, pp: 219-231.
- Garlick, P.J. (2004). The Nature of Human Hazards Associated with Excessive Intake of Amino Acids. *Journal Nutrition*, 134, pp: 1.633S-1.639S.
- Genuth, S.M. (1973). Effects of oral alanine administration in fasting obese subjects. *Metabolism*, 22, pp: 927-937.
- Genuth, S.M. y Castro, J. (1974). Effects of oral alanine on blood betahydroxybutyrate and plasma glucose, insulin, free fatty acids, and growth hormone in normal and diabetic subjects. *Metabolism*, 23, pp: 375-386.
- Glyn, J.R. y Lipton, J.M. (1981). Effects of central administration of alanine on body temperature of the rabbit: comparisons with the effects of serine, glycine and taurine. *Brain Research Bulletin*, 6, pp: 467-472.
- Harper, A.E., Benevenga, N.J. y Wohlheuter, R.M. (1970). Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. *Physiology Review*, 50, pp: 428-558.

- Koeslag, J.H., Levinrad, L.I. y Klaff, L.J. (1985a). Pancreatic polypeptide response to exercise: effect of alanine and glucose ingestion in carbohydrate-starved athletes. *South African Medical Journal*, 67, pp: 884-887.
- Koeslag, J.H., Levinrad, L.I., Lochner, J.D. y Sive, A.A. (1985b). Postexercise ketosis in post-prandial exercise: effect of glucose and alanine ingestion in humans. *Journal Physiology*, 358, pp: 395-403.
- LSRO (1992). Life Science and Research Office. Safety of Amino Acids used as dietary supplements. Anderson, S.A. & Raiten D.J. eds. 1992 Bethesda Md. Life Science and Research Office Report.
- Martinez, A., Urios, A. y Blanco, M. (2000). Mutagenicity of 80 chemicals in Escherichia coli tester strains IC203, deficient in oxyR and its oxyR+ parent WP2uvrA/pKM101: detection of 31 oxidative mutagens. *Mutation Research*, 467, pp: 41-53.
- NLH (2012). National Library of Medicine. Dietary Supplements Labels Database. Disponible en: <http://dietarysupplements.nlm.nih.gov/dietary/brlIngred.jsp?contain=Alanine&id=1004&sort=brand> [acceso: 11-02-13].
- Patra, F.C., Sack, D.A., Islam, A., Alam, A.N. y Mazumder, R.N. (1989). Oral rehydration formula containing alanine and glucose for treatment of diarrhoea: a controlled trial. *British Medical Journal*, 298, pp: 1.353-1.356.
- Schricker, T., Albuszies, G., Weidenbach, H., Beckh, K.H., Ensinger, H., Adler, G., Wachter, U. y Georgieff, M. (1995). Glycerol metabolism in patients with alcohol-induced liver cirrhosis. *Clinical Nutrition*, 14, pp: 237-241.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269 de 14 de octubre de 2009, pp: 9-19.

5.5 L-arginina

5.5.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad diaria máxima de 3 g de L-arginina. Dicha propuesta se ha consultado con la industria.

En Italia la L-arginina está autorizada en complementos alimenticios (propuesta legislativa) sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2012).

5.5.2 Características y fuentes

La L-arginina es un aminoácido básico, con carga positiva, polaridad neutra y que contiene dos grupos aminos y un grupo carboxilo.

Las fuentes dietéticas más importantes de L-arginina son los productos lácteos, las carnes, los pescados, los frutos secos y las semillas.

EFSA ha publicado una opinión científica relativa a la verificación de declaraciones de salud relativas a la L-arginina: i) crecimiento y mantenimiento de la masa muscular; ii) mejora del sistema inmune; iii) mejora en la formación de glóbulos rojos; iv) regulación de la presión sanguínea; v) mejora de la vasodilatación dependiente del endotelio; vi) mejora de la condición física; vii) mejora de la función eréctil y de la espermatogénesis; viii) mejora de la función gastrointestinal; y ix) mantenimiento del aclaramiento de amoníaco. Basándose en la información presentada, el Panel de NDA de EFSA no ha podido establecer en ningún caso una relación causa efecto (EFSA, 2011).

5.5.3 Nutrición y metabolismo

La L-arginina es un aminoácido condicionado esencial. Por lo tanto, en adultos con una ingesta adecuada de proteínas, la síntesis endógena es suficiente para cubrir las necesidades fisiológicas. Sin embargo, en algunos estados con alta demanda catabólica (grandes quemados, politraumatizados, infecciones graves/severas y cáncer avanzado) o durante períodos de crecimiento rápido, las necesidades corporales pueden ser superiores a la capacidad de síntesis del organismo.

La síntesis endógena de la L-arginina tiene lugar mediante varios pasos, a partir de los aminoácidos aspartato y citrulina. Esta síntesis tiene lugar mediante la enzima L-arginina sintasa y ocurre fundamentalmente en el hígado y el riñón (Wu y Morris, 1998).

La L-arginina tiene un papel metabólico esencial en la formación de factores con una función fisiológica importante (óxido nítrico, urea y creatina). Además, es importante en la síntesis de proteínas y en la liberación de hormonas (Guest et al., 2004). Como consecuencia de esto, las funciones más importantes de la L-arginina son: i) aumentar la secreción de hormonas como la hormona del crecimiento, la insulina, el glucagón y la prolactina (Isidori et al., 1981) (McConell, 2007); ii) mejorar la función endotelial (Diguardi, 2011); iii) mejorar la función inmune (Munder, 2009); y iv) tiene propiedades ergogénicas (Elam, 1988). Estas funciones hacen que los posibles usos clínicos de la suplementación con L-arginina sean numerosos.

De acuerdo con el informe técnico conjunto de la FAO/OMS/UNU los requerimientos de L-arginina en los adultos son 117 mg/kg p.c./día (OMS, 2007). La ingesta normal de un adulto con una alimentación de proteínas mixtas correcta es de 5,4 g/100 g de proteínas mixtas (NRC, 2002). Debido a la

falta de información científica suficiente, todavía no se ha establecido el nivel superior de ingesta tolerable.

5.5.4 Seguridad

Los estudios llevados a cabo en humanos en los que se ha administrado L-arginina por vía oral son muy variados en lo que concierne al tamaño muestral, variedad muestral, tipo de ensayo clínico o de intervención nutricional, dosificación, duración, efectos analizados y presencia de otros componentes activos. En general, en todos estos estudios no se han encontrado efectos adversos claros que se puedan atribuir a la L-arginina. Así pues, toda la literatura analizada muestra un nivel de seguridad bastante elevado para la suplementación con L-arginina (Shao y Hathcock, 2008).

En este sentido la dosis más alta utilizada en un ensayo clínico, en pacientes con fibrosis quística fue de 42 g/día durante 6 semanas (Grasemann et al., 2005). Por otro lado, el ensayo con mayor duración tuvo lugar en pacientes trasplantados de riñón y duró 3 años, durante los cuales se administraron 9 g/día (Alexander et al., 2005).

No obstante, ha habido algunos estudios que describen molestias gastrointestinales tras la suplementación oral con L-arginina (Grimble, 2007). Sin embargo, esos estudios no estaban correctamente controlados o incluían pacientes que sufrían cáncer y que estaban siendo tratados con quimioterapia.

En ausencia de estudios que demuestren toxicidad es muy difícil establecer un NOAEL o un LOAEL. Esto es algo que ocurre para los aminoácidos que más habitualmente se ingieren a través de la dieta. Consecuentemente, para estos casos algunos autores (Shao y Hathcock, 2008) proponen usar como alternativa el OSL (*Observed Safe Level*). En este sentido, técnicamente la dosis más alta de L-arginina empleada en un ensayo clínico de 42 g/día (Grasemann et al., 2005) podría considerarse el OSL. Sin embargo, debido a la carencia de otros ensayos clínicos en los que se use esta dosis u otras similares, no existe un nivel de evidencia suficiente como para poder considerar esta dosis como segura y se establece un nivel de incertidumbre relativamente alto.

Otro estudio que ha usado aportes altos de L-arginina es el que llevaron a cabo Chin-Dusting et al. (1996). Se trata de un ensayo clínico, en sujetos sanos, doble ciego y placebo controlado, en el que se administraron 20 g/día de L-arginina durante 4 semanas. No se encontró ningún efecto adverso, ni ninguna alteración en los parámetros analíticos. Posteriormente, se han publicado otros seis ensayos clínicos, todos sin efectos adversos y alteraciones de ningún tipo, en los que se emplearon dosis entre 21-42 g/día (Shao y Hathcock, 2008). Esto hace que, para la suplementación con L-arginina de sujetos sanos, se pueda considerar apropiado un OSL de 20 g/día con un nivel de confianza suficiente.

5.5.5 Conclusión

En la revisión de 38 ensayos clínicos realizados en humanos, no se ha encontrado efecto adverso ni alteración clínica alguna, no permitiendo por tanto establecer un valor para el NOAEL o LOAEL para la administración oral de L-arginina. Así pues, basándose en los ensayos clínicos y en la calidad de los mismos se ha optado por establecer un OSL de 20 g/día para la suplementación con L-arginina

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de

una cantidad máxima diaria de 3 g de L-arginina es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Alexander, J.W., Metzger, T.J., McIntosh, M.J., Goodman, H.R., First, M.R., Munda, R., Cardin, M.A., Austin, J.N., Goel, S., Safdar, S., Greenberg, N., Chen, X. y Woodle, E.S. (2005). The influence of immunomodulatory diets on transplant success and complications. *Transplantation*, 79, pp: 460-465.
- Chin-Dusting, J.P., Alexander, C.T., Arnold, P.J., Hodgson, W.C., Lux, A.S. y Jennings, G.L. (1996). Effects of in vivo and in vitro L-arginine supplementation on healthy human vessels. *The Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 28, pp: 158-166.
- Diguardi, F.S. (2011). To give or not give? Lesson from the arginine paradox. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 4, pp: 90-98.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to L arginine and "immune system functions" (ID 455, 1713), growth or maintenance of muscle mass (ID 456, 1712, 4681), normal red blood cell formation (ID 456, 664, 1443, 1712), maintenance of normal blood pressure (ID 664, 1443), improvement of endothelium-dependent vasodilation (ID 664, 1443, 4680), "physical performance and condition" (ID 1820), "système nerveux" (ID 608), maintenance of normal erectile function (ID 649, 4682), contribution to normal spermatogenesis (ID 650, 4682), "function of the intestinal tract" (ID 740), and maintenance of normal ammonia clearance (ID 4683) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9, pp: 2.081.
- Elam, R.P. (1988). Morphological changes in adult males from resistance exercise and amino acids supplementation. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 28, pp: 35-47.
- Grasemann, H., Grasemann, C., Kurtz, F., Tietze-Schillings, G., Vester, U. y Ratjen, F. (2005). Oral L-arginine supplementation in cystic fibrosis patients: a placebo controlled study. *The European Respiratory Journal*, 25, pp: 62-68.
- Grimble, G.K. (2007). Adverse gastrointestinal effects of arginine and related amino acids. *Journal of Nutrition*, 137, pp: 1.693S-1.665S.
- Guest, J.E., Lewis, N.M. y Guest, J.R. (2004). Arginine. En libro: *Nutritional ergogenic aids*. Eds. Wolinsky y Driskell. CRC Press, pp: 21-35.
- Isidori, A., Monaco, A.L. y Cappa, M. (1981). A study of growth hormone release in man after oral administration of amino acids. *Current Medical Research and Opinion*, 7, pp: 475-483.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- McConell, G.K. (2007). Effects of arginine supplementation on exercise metabolism. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 10, pp: 47-51.
- Munder, M. (2009). Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. *British Journal of Pharmacology*, 158, pp: 638-651.
- NRC (2002). National Research Council, National Academic of Sciences. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Protein and Amino Acids. Washington, D.C., National Academy Press.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- Shao, A. y Hathcock, J.N. (2008). Risk assessment for the amino acids taurine, L-glutamine and L-arginine. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 50, pp: 376-399.
- Wu, G. y Morris, Jr, S.M. (1998). Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *The Biochemical Journal*, 336, pp: 1-17.

5.6 L-carnitina

5.6.1 Propuesta

La AESAN propone una cantidad máxima diaria de L-carnitina de 2 g utilizando como fuentes L-carnitina, clorhidrato de L-carnitina y de 3 g si se utiliza como fuente tartrato de L-carnitina. Dicha propuesta se basa en la opinión de EFSA (2003) y en la autorización en Dinamarca en complementos alimenticios para la L-carnitina y la L-carnitina-L-tartrato (Dinamarca, 2011).

5.6.2 Características y fuentes

La L-carnitina (β -hidroxi- γ -trimetilamino-butirato) es un derivado de los aminoácidos L-lisina y L-metionina. Está ampliamente distribuida en todos los tejidos de los mamíferos y es muy abundante en el tejido muscular.

La homeostasis de L-carnitina se mantiene gracias a una modesta síntesis, que tiene lugar en el hígado y el riñón, a través de la dieta y por medio de una eficiente reabsorción renal (Rebouche y Seim, 1998). La leche y productos lácteos, la carne y el pescado son ricos en L-carnitina.

La administración de L-carnitina como complemento alimenticio puede tener lugar de tres formas distintas: L-carnitina, propionil L-carnitina y acetil L-carnitina. Si bien se suele utilizar la acetil L-carnitina en su forma de clorhidrato o formando una sal con el ácido tartárico (tartrato de L-carnitina).

EFSA ha publicado una opinión científica relativa a la verificación de declaraciones de salud relativas a la L-carnitina: i) recuperación más rápida de la fatiga muscular tras el ejercicio; ii) reparación del músculo esquelético tras el ejercicio; iii) mejora de la capacidad aeróbica; iv) regulación de los niveles de LDL-colesterol; v) ayuda a la espermatogénesis; y vi) mejora de los niveles circulantes de ácidos grasos libres durante el embarazo. Basándose en la información presentada, el Panel de NDA de EFSA no ha podido establecer en ningún caso una relación causa-efecto (EFSA, 2011).

5.6.3 Nutrición y metabolismo

La L-carnitina se sintetiza a partir de los aminoácidos esenciales L-lisina y L-metionina. Además, para su biosíntesis se necesita ácido ascórbico, hierro, niacina y vitamina B₆. En el hígado, riñones, corazón y músculo esquelético se sintetiza la N-trimetil-L-lisina, a partir de L-lisina y S-adenosil-L-metionina. Posteriormente, tras algunos pasos intermedios, se sintetiza γ -butirotetaina y, finalmente, solo en el hígado y en el riñón se sintetiza la L-carnitina (Broquist, 1982).

La ingesta media de L-carnitina de población con una alimentación variada es de 100-300 mg/día (Feller y Rudman, 1988). Hay una serie de factores que pueden afectar a la síntesis de L-carnitina, como son el contenido de L-carnitina de la dieta y ciertos estados patológicos (insuficiencia renal, diabetes, alcoholismo y cáncer). La L-carnitina libre se absorbe entre el 50-90 % en el intestino delgado (Rebouche y Seim, 1998).

La L-carnitina tiene un papel importante en el metabolismo energético, ya que se encarga de facilitar la entrada de los ácidos grasos de cadena larga en la matriz mitocondrial, donde son oxidados. También, ayuda a la salida de los ácidos grasos de cadena corta desde la mitocondria al citosol, reduce la producción de lactato y mejora la estabilidad de las membranas celulares.

Debido a que la L-carnitina es un derivado de aminoácidos ampliamente distribuido en todos los tejidos de mamíferos, no se han establecido ingestas dietéticas de referencia (DRI), ni requerimientos medios (AR).

La deficiencia de L-carnitina es muy rara (unos 100 casos diagnosticados en los últimos 40 años). No obstante, los recién nacidos prematuros y los neonatos tienen una baja capacidad de síntesis de L-carnitina, si además son alimentados con fórmulas lácteas o a base de soja, exentas de L-carnitina, se produce un descenso significativo de los niveles plasmáticos de L-carnitina (Gil y Sánchez de Medina, 2010).

5.6.4 Seguridad

La bioequivalencia del tartrato de L-carnitina y del clorhidrato de L-carnitina con la L-carnitina es completa (Schmidbaur et al., 1998).

Los estudios de toxicidad aguda realizados en rata muestran que dosis de tartrato de L-carnitina de hasta 5,0 g/kg p.c. no tenían efectos tóxicos (IBR, 1991a). Los trabajos de mutagenicidad llevados a cabo no mostraron ningún efecto mutagénico hasta dosis de 5,0 g/placa (IBR, 1991b) (Hendler y Rorvik, 2001). Con respecto al clorhidrato de L-carnitina se ha visto que se pueden extrapolar los datos del tartrato de L-carnitina (Bioresco, 2003).

En cuanto a las investigaciones sobre la tolerancia en humanos, los aportes de hasta 15 g L-carnitina/día son en general bien tolerados, en algunas personas generan molestias gastrointestinales y diarrea (Lurz y Fischer, 1998). En el caso del tartrato de L-carnitina hay un estudio aleatorizado/randomizado, doble ciego, de diseño cruzado y con 1 semana de lavado, en el que la administración de 3 g/día de tartrato de L-carnitina durante 3 semanas no afecta a los parámetros bioquímicos, hematológicos, la función hepática y la función renal (Rubin et al., 2001). Sin embargo, este mismo trabajo señala que dosis de 4-6 g/día pueden producir molestias gastrointestinales y diarrea.

Finalmente, hay que tener en cuenta que la acetil-L-carnitina puede interferir con el metabolismo tiroideo (Hendler y Rorvik, 2001) (Zdanowicz, 2001), por lo que en personas con medicación por enfermedades tiroideas o con cualquier patología tiroidea no sería recomendable la ingestión de suplementos de cualquier forma de acetil-L-carnitina.

5.6.5 Conclusión

En general, la tolerancia de los humanos a la L-carnitina es alta, sin embargo dosis de entre 4-6 g/día de la forma tartrato de L-carnitina pueden producir alteraciones gastrointestinales. Por tanto, el Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 2 g de L-carnitina, utilizando como fuentes L-carnitina, clorhidrato de L-carnitina y de 3 g si se utiliza como fuente tartrato de L-carnitina, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

No obstante se recomienda no superar las ingestas dietéticas en los casos de personas con patologías tiroideas y en tratamiento de las mismas.

Referencias

Bioresco (2003). L-carnitine-L-tartrate. Submission on behalf of Lonza AG, Basel, Switzerland on reference to commission Directive 2001/15/Ec on substances that may be added for specific nutritional uses on foods for particular nutritional uses. Author: A. Bär, PhD, Bioresco Ltd, Basel, Switzerland.

- Broquist, H.P. (1982). Carnitine biosynthesis and function: introductory remarks. *Federation Proceedings*, 41, pp: 2.840-2.842.
- Dinamarca (2011). Orden relativa a la adición de determinadas sustancias a los alimentos, distintas de vitaminas y minerales.
- EFSA (2003). European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to L-Carnitine-L-tartrate for use in foods for particular nutritional uses. *The EFSA Journal*, 19, pp: 13.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to L-carnitine and faster recovery from muscle fatigue after exercise (ID 738, 1492, 1493), skeletal muscle tissue repair (ID 738, 1492, 1493), increase in endurance capacity (ID 4305, 4684), maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1494, 4684), contribution to normal spermatogenesis (ID 1822), "energy metabolism" (ID 1821), and increasing L-carnitine concentrations and/or decreasing free fatty acids in blood during pregnancy (ID 1495) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9, pp: 2.236.
- Feller, A.G. y Rudman, D. (1988). Role of carnitine in human nutrition. *Journal of Nutrition*, 118, pp: 541-547.
- Gil, A. y Sánchez de Medina, F. (2010). Aminoácidos semiesenciales y derivados de aminoácidos de interés nutricional. En libro: *Tratado de Nutrición*. Ed. Gil. Editorial Médica Panamericana, pp: 345-377.
- Hendler, S.S. y Rorvik, D. (2001). Acetyl-L-carnitine. *PDR for Nutritional Supplements*. Montvale, Medical Economics Company, Inc., pp: 9-11.
- IBR (1991a). International Bio Research. Acute Oral toxicity Test of "P549722 in rats. Final Report dated 15.3.91. IBR Project No. 10-04-1247-90. IBR Forschungs GMBH, Walsrode, GHermany, Sponsored by lonza Ag, Basel, Switzerland.
- IBR (1991b). International Bio Research. Final report on the mutagenicity testing salmonella/microsoma test. Test article "P5497". Report dated 8.2.91. IBR Project No. 95-92-1249-90. IBR Forschungs GMBH, Walsrode, GHermany, Sponsored by lonza Ag, Basel, Switzerland.
- Lurz, R. y Fischer, R. (1998). Carnitin zur unterstützung der gewichtsabnahme bei adipositas. *Ärztezeitschr. Naturheil-verb.*, 39, pp: 12-15.
- Rebouche, C.J. y Seim, H. (1998). Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *The Annual Review of Nutrition*, 18, pp: 39-61.
- Rubin, M.R., Volek, J.S., Gómez, A.L., Ratamess, N.A., French, D.N., Sharman, M.J. y Kraemer, W.J. (2001). Safety measures of L-carnitine-L- tartrate supplementation in healthy men. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 15, pp: 486-490.
- Schmidbaur, H., Schier, A. y Bayler, A. (1998). The solution and solid state structure of L-carnitine-L-tartrate. *Zeitschrift für Naturforschung*, 53, pp: 788-791.
- Zdanowicz, M.M. (2001). Acetyl-L-carnitine's healing potential. *Natural Healing Track*. Disponible en: http://.nhir.com/tests/oct_2001.pdf [acceso: 27-11-12].

5.7 L-cisteína

5.7.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión de una cantidad máxima diaria de L-cisteína de 300 mg.

La propuesta se basa en que el Reglamento (CE) N° 953/2009 (UE, 2009) incluye a la L-cisteína entre las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos a alimentos destinados a una alimentación especial.

En Italia está autorizada en complementos alimenticios (propuesta legislativa) una cantidad máxima diaria de 1.190 mg de L-cisteína + L-metionina (Italia, 2012).

5.7.2 Características y fuentes

La L-cisteína $C_3H_7NO_2S$ ($CH_2SH-CHNH_2-COOH$) es un aminoácido azufrado esencial condicional, que se obtiene a partir de L-metionina y de serina. En condiciones fisiológicas normales el organismo puede obtener L-cisteína en cantidad suficiente. Aunque los recién nacidos pretérmino no pueden sintetizarla y deben obtenerla a través de la dieta.

Para satisfacer las necesidades de L-cisteína y L-metionina se requiere un aporte suficiente de ésta. Las legumbres son deficitarias en aminoácidos azufrados, éstos se encuentran en mayor cantidad en las proteínas de los cereales y en las proteínas animales. Aunque la presencia de los aminoácidos azufrados en las proteínas es menos abundante que la de otros aminoácidos es importante desde un punto de vista metabólico, hasta el punto que el requerimiento relativo para el mantenimiento es probablemente mayor que para el crecimiento.

Las ingestas dietéticas recomendadas para adultos (mayores de 19 años) (IoM, 2005) son: requerimientos medios (AR): L-metionina + L-cisteína: 15 mg/kg p.c./día; ingestas dietéticas de referencia (DRI): L-metionina + L-cisteína: 19 mg/kg p.c./día.

Los requerimientos (OMS, 2007) para adultos son: cistina: 4 mg/kg p.c./día; L-metionina + L-cisteína: 15 mg/kg p.c./día.

5.7.3 Nutrición y metabolismo

La L-cistina se transforma en L-cisteína por acción de una cistina reductasa, que necesita NADH como cofactor. L-cisteína y cistina son interconvertibles y se suelen considerar de forma conjunta. En el organismo humano la L-cisteína es el compuesto central en el metabolismo del azufre. En las proteínas, la formación de enlaces disulfuro entre los grupos tiol de la L-cisteína desempeña un importante papel en la estructura ternaria y en la actividad enzimática, no obstante, la L-cisteína se incorpora siempre como tal en la cadena polipeptídica.

La L-cisteína es un aminoácido de gran interés metabólico, aparte de ser un precursor de la taurina, forma parte de moléculas tan importantes como la coenzima A o el glutatión. Tiene funciones como antioxidante y se utiliza en la conjugación de xenobióticos y en la formación de leucotrienos. Una característica importante de la L-cisteína es la facilidad de su oxidación a cistina (Sánchez de Medina, 2010).

La L-cisteína se degrada a piruvato en dos etapas, eliminación de azufre y transaminación. La L-cisteína puede metabolizarse a taurina y CO_2 a través de la vía L-cisteína sulfinato, cuyo paso inicial es la oxidación, catalizada por la L-cisteína dioxigenasa, a cisteína sulfinato. La cisteína sulfinato puede desca-

boxilarse para dar taurina o metabolizarse vía beta-sulfinilpiruvato (supuesto intermediario) a piruvato y sulfito y a continuación a CO₂ y sulfato (Stipanuk, 1986).

En los Estados Unidos se ha estimado, a partir de los datos de NHANES III (1988-1994), una ingesta dietética media de L-cisteína procedente de los alimentos y de los complementos alimenticios de 1,0 g/día. La mayor ingesta corresponde a los hombres de edades comprendidas entre los 51 y 70 años y es de 2,2 g/día en el percentil 99.

5.7.4 Seguridad

Dietas de bajo contenido proteico con contenidos de L-cisteína del 0,5 al 10 % reducen el aumento de peso y la ingesta de alimentos y en consecuencia se incrementa la mortalidad animal (Harper et al., 1970). También modifican la concentración plasmática de colesterol que aumenta en las ratas que reciben dietas pobres en colesterol y disminuye en aquellas cuyas dietas son ricas en colesterol (Rukaj y Sérougne, 1983) (Sérougne y Rukaj, 1983) (Sérougne et al., 1987). Además, de forma sistemática se han señalado cambios histopatológicos en riñón e hígado (Harper et al., 1970).

Efectos agudos adversos en animales

La L-cisteína es mutagénica en bacterias (Glatt, 1989), pero no en células de mamíferos (Glatt, 1990).

Una dosis oral única de 3 g L-cisteína/kg p.c. provocó en ratones albinos *Swiss Webster*, de 10 a 12 días de edad, necrosis en las neuronas hipotalámicas y lesiones en la retina, que se detectaron 5 horas después de la toma (Olney y Ho, 1970). Asimismo la inyección subcutánea de 1,2 mg de L-cisteína/kg p.c. a ratas *Wistar* de 9 a 10 días de edad, provocó una distrofia permanente de las capas interiores de la retina (Karlsen y Pedersen, 1982).

La inyección intraperitoneal de 1,0 mmol L-cisteína/kg p.c. a ratas macho *Wistar* dio lugar a una concentración máxima en sangres de unos 2 mM a los 30 minutos (Calabrese et al., 1997). Al cabo de una hora, la exposición provocó concentraciones elevadas de malondialdehído en la *substantia nigra* del cerebro. La inyección subcutánea de 0,5 g de L-cisteína/kg p.c. a ratas *Sprague-Dawley* de 4 días de edad no tuvo efecto ulterior en los neurotransmisores o sistemas neuropéptidos en el *striatum* a los 35 días de edad (Sivam y Chermak, 1992).

Se ha señalado que la administración aguda a ratas de una dosis de 1,9 g L-cisteína/kg p.c. provoca alteraciones ultraestructurales de células testiculares Sertoli y espermatidas (Bernacchi et al., 1993).

La L-cisteína se ha identificado como neuroexcitotoxina por su interacción con receptores N-metil-D-aspartato (NDMA) (Olney, 1994). La administración perinatal de L-cisteína a ratones o ratas con una barrera hematoencefálica inmadura produce neurotoxicidad. En animales recién nacidos se observan efectos en el cerebro (hipotálamo) y retina similares a los inducidos por el ácido L-glutámico (Olney, 1994).

Efectos adversos agudos en humanos

En el hombre dosis orales únicas de 5 y 10 g de L-cisteína provocaron náuseas y ligeros mareos (Carlson et al., 1989). Asimismo, en personas sanas a las que administraron dosis crecientes de hasta 20 g de L-cisteína (con tranilcipromine), se observó fatiga, mareos, náuseas e insomnio dependientes de la dosis (Davies et al., 1972).

No se dispone de información relativa a la administración crónica de L-cisteína en el hombre.

La información disponible sobre los efectos adversos de la ingesta de L-cisteína y L-cistina procedente de complementos alimenticios no se considera suficiente para una evaluación dosis respuesta ni para proponer una UL para la L-cisteína (IoM, 2005).

5.7.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 300 mg de L-cisteína es inferior a los requerimientos de L-metionina + L-cisteína establecidos por la OMS y está muy alejada de las dosis de L-cisteína que provocan mareos y náuseas, por lo que la considera aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Bernacchi, A.S., de Ferreyra, E.C., de Castro, C.R. y Castro, J.A. (1993). Ultrastructural alterations in testes from rats treated with cysteine. *Biomedical and Environmental Sciences*, 6, pp: 172-178.
- Calabrese, V., Rausa, N., Antico, A., Mangiameli, S. y Rizza, V. (1997). Cysteine-induced enhancement of lipid peroxidation in substantia nigra: Comparative effect with exogenous administration of reduced glutathione. *Drugs Under Experimental and Clinical Research*, 23, pp: 25-31.
- Carlson, H.E., Miglietta, J.T., Roginsky, M.S. y Stegink, L.D. (1989) Stimulation of pituitary hormone secretion by neurotransmitter amino acids in humans. *Metabolism*, 38, pp: 1.179-1.182.
- Davis, J.M., Spaide, J.K. y Himwich, H.E. (1972) Effects of tranlycypromine and L-cysteine on plasma amino acids in controls and schizophrenic patients. *American Journal of Clinical Nutrition*, 25, pp: 302-310.
- Glatt, H. (1989). Mutagenicity spectra in *Salmonella typhimurium* strains of glutathione, L-cysteine and active oxygen species. *Mutagenesis*, 4, pp: 221-227.
- Glatt, H. (1990). Endogenous mutagens derived from amino acids. *Mutation Research*, 238, pp: 235-243.
- Harper, A.E., Benevenga, N.J. y Wohlheuter, R.M. (1970). Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. *Physiological Reviews*, 50, pp: 428-558.
- IoM (2005). Institute of Medicine. DRI Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. The National Academies Press. Washington DC. Disponible en: www.nap.edu [acceso: 27-11-12].
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Karlsen, R.L. y Pedersen, O.O. (1982). A morphological study of the acute toxicity of L- cysteine on the retina of young rats. *Experimental Eye Research*, 34, pp: 65-69.
- Olney, J.W. (1994). Excitotoxins in foods. *Neurotoxicology*, 15, pp: 535-544.
- Olney, J.W. y Ho, O.L. (1970). Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cysteine. *Nature*, 227, pp: 609-611.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- Rukaj, A. y Sérougne, C. (1983). Effect of excess dietary cysteine on the biodynamics of cholesterol in the rat. *Biochimica et Biophysica Acta*, 753, pp: 1-5.
- Sánchez de Medina, F. (2010). Metabolismo de los aminoácidos. En A. Gil. Tratado de Nutrición. Tomo 1. Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición, 2ª edición. Editorial Médica Panamericana.

- Sérougne, C. y Rukaj, A. (1983). Plasma and lipoprotein cholesterol in rats fed L-amino acid-supplemented diets. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 27, pp: 386-395.
- Sérougne, C., Férézou, J. y Rukaj, A. (1987). A new relationship between cholesterolemia and cholesterol synthesis determined in rats fed an excess of cysteine. *Biochimica et Biophysica Acta*, 921, pp: 522-530.
- Sivam, S.P. y Chermak, T. (1992). Neonatal administration of L-cysteine does not produce long-term effects on neurotransmitter or neuropeptide systems in the rat striatum. *Research Communications in Chemical Pathology & Pharmacology*, 77, pp: 219-225.
- Stipanuk, M.H. (1986). Metabolism of the sulfur-containing amino acids. *Annual Review of Nutrition*, 6, pp: 179-209.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269 de 14 de octubre de 2009, pp: 9-19.

5.8 L-glutamina

5.8.1 Propuesta

La AESAN propone una cantidad diaria máxima de 2.000 mg de L-glutamina. Dicha propuesta se basa en la autorización en Dinamarca de una cantidad total máxima que no debe superar los 2.000 mg de L-glutamina por dosis diaria recomendada (Dinamarca, 2011).

En Italia la L-glutamina está autorizada en complementos alimenticios (propuesta legislativa) sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2012).

5.8.2 Características y fuentes

La L-glutamina es la forma amida del ácido L-glutámico. En circunstancias fisiológicas normales se sintetiza en cantidades suficientes para satisfacer las necesidades corporales, por ello tradicionalmente se ha considerado un aminoácido no esencial. No obstante, en los últimos años se ha comprobado que en condiciones de estrés metabólico, la demanda de L-glutamina aumenta y el ser humano es incapaz de sintetizarla en cantidades adecuadas. Por eso, actualmente se piensa que debe incluirse entre los aminoácidos condicionalmente esenciales.

Es el aminoácido más abundante en la sangre. También es el que se encuentra en mayor cantidad en las células. Además, constituye el 61 % de los aminoácidos del músculo esquelético, por lo que representa la mitad del total de los aminoácidos corporales.

Las fuentes más importantes de L-glutamina son la ternera, el pollo, el pescado, los huevos, los productos lácteos, el trigo, las coles, la remolacha, las judías, las espinacas y el perejil.

EFSA ha publicado dos opiniones científicas relativa a la verificación de declaraciones de salud relativas a la L-glutamina: i) crecimiento y mantenimiento de la masa muscular; ii) recuperación más rápida de los depósitos de glucógeno muscular tras el ejercicio intenso; iii) incremento en la reparación del tejido muscular tras el ejercicio; iv) mejora de la función neurológica e incremento de la atención; v) mejora de la memoria; vi) incremento de la síntesis de proteínas intestinales; vii) mejora del sistema inmune; y viii) mejora de los mecanismos de defensa frente a los patógenos intestinales. Basándose en la información presentada, el Panel de NDA de EFSA no ha podido establecer, en ningún caso, una relación causa-efecto (EFSA, 2009, 2011).

5.8.3 Nutrición y metabolismo

En el organismo la L-glutamina se sintetiza a partir del glutamato y del amoníaco, en una reacción catalizada por la L-glutamina sintetasa, con la colaboración del ATP. La hidrólisis de la L-glutamina es catalizada por la glutaminasa, la cual regenera el glutamato y el amoníaco.

La síntesis de la L-glutamina y su liberación a la sangre predomina en el músculo, tejido adiposo, pulmones y cerebro. En estos tejidos, la síntesis de L-glutamina es una manera de detoxificar los tejidos de amoníaco. La hidrólisis de L-glutamina tiene lugar en la mucosa intestinal, donde se utiliza como fuente de energía y para la síntesis de purinas. La hidrólisis de la L-glutamina en la corteza renal sirve para regular el equilibrio ácido-base. Finalmente, el hígado es capaz de sintetizar e hidrolizar L-glutamina.

Además de las funciones ya señaladas, la L-glutamina tiene otras funciones fisiológicas importantes: i) regulación de la liberación de insulina; ii) disminución de la síntesis de glucocorticoides; iii) reservorio

de nitrógeno; iv) regulación del recambio proteico; v) regulación de la expresión génica; vi) regulación de la inmunidad; vii) combustible metabólico para los tejidos en rápido crecimiento y que lo demanden; viii) inhibición de la apoptosis celular; ix) síntesis de aminoazúcares y glucoproteínas; y x) síntesis de purinas y pirimidinas (Brasse-Lagnel et al., 2009) (Stanley, 2009) (Wu, 2009).

En los últimas dos décadas se ha puesto en evidencia la importancia de la utilización de la L-glutamina en varios estados catabólicos (sepsis, politraumatismos, cáncer, trasplante de médula ósea, quimioterapia intensiva y radiación), así como, en enfermedades intestinales inflamatorias (Ballesteros et al., 2010) (Kuhn et al., 2010) (Xi et al., 2011). En estas situaciones, la L-glutamina se administra en soluciones parenterales como dipéptido. Esto mejora la respuesta al estrés metabólico, la inmunidad celular, la integridad de la barrera intestinal, la síntesis de L-arginina y el balance nitrogenado, preservando la L-glutamina muscular (Cardona, 1998) (Wenerban, 2008). La eficacia de la suplementación con L-glutamina por vía oral está en duda, pero existen evidencias clínicas recientes que indican como su uso en la nutrición enteral mejora la respuesta inmunológica y reduce el gasto en los pacientes críticos (DeLegge, 2008).

Debido a que en ausencia de enfermedad la L-glutamina, es un aminoácido no esencial, no se han establecido ingestas dietéticas de referencia (DRI), ni requerimientos medios (AR). Además, las evidencias científicas de los efectos beneficiosos de la suplementación con L-glutamina tienen lugar a dosis muy superiores a las que se alcanzan con la dieta. En este sentido, el Panel NDA de EFSA ha publicado dos informes en los que proponen dosis diarias de L-glutamina de 50-900 mg/kg p.c./día para que tengan efectos beneficiosos (EFSA, 2009, 2011).

5.8.4 Seguridad

Existen numerosos estudios sobre el uso de L-glutamina como complemento alimenticio, pero solo cuatro han sido diseñados con el objetivo de evaluar su seguridad (Garlick, 2001). De estos estudios se concluye que la L-glutamina es segura en adultos y neonatos pero no se dispone de datos que permitan identificar uno o varios efectos adversos. Es más, los estudios realizados no han permitido establecer un NOAEL para la L-glutamina (Garlick, 2001). Las dosis máximas empleadas en los escasos estudios realizados han sido 0,3 g/kg p.c. en una sola dosis oral o 0,57 g/kg p.c. por vía intravenosa, durante 30 días. Existe además un estudio que ha llegado a emplear entre 20-40 g/día, pero solo durante 24 horas.

No obstante, hay que tener en cuenta una serie de consideraciones: i) no hay estudios de ningún tipo sobre el uso de L-glutamina en sujetos sanos durante períodos largos de tiempo; ii) los estudios siempre se han hecho en pacientes muy controlados desde el punto de vista médico; iii) hay que considerar la susceptibilidad individual, ya que hay un estudio que demuestra intolerancia a la L-glutamina a dosis de 0,1-1,0 g/kg p.c./día, en casos de su uso para el tratamiento de la enfermedad de Crohn (Akobeng et al., 2000); iv) no hay datos de toxicidad en ancianos, en los que dosis altas de L-glutamina podrían dificultar el procesamiento hepático y renal, de una carga de nitrógeno aumentada; y v) la L-glutamina se metaboliza a glutamato y amoníaco, compuestos que tienen efectos neurológicos adversos, por lo que se deberían hacer estudios sobre sus posibles efectos psicológicos y sobre el comportamiento.

Finalmente, el Comité Científico de la Agencia Noruega de Seguridad Alimentaria (VKM, 2011) establece que la L-glutamina presenta un riesgo bajo. Entendiendo como tal cuando no se producen cambios en los biomarcadores, ni hay efectos perjudiciales para la salud.

5.8.5 Conclusión

El Comité Científico considera que no se han detectado efectos adversos tanto en los estudios de seguridad realizados con la L-glutamina como en su uso a dosis altas en nutrición clínica. Por tanto, y aunque no se ha evaluado la seguridad de la L-glutamina en sujetos sanos y en administraciones crónicas, este Comité Científico concluye que la propuesta de AESAN de una cantidad máxima diaria de 2.000 mg de L-glutamina es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Akobeng, A.K., Miller, V., Stanton, J., Elbradi, A.M. y Thomas, A.G. (2000). Double-blind randomized controlled trial of glutamine-enriched polymeric diet in the treatment of active Crohn's disease. *The Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 30, pp: 78-84.
- Ballesteros Pomar, M.D., Vidal Casariego, A., Calleja Fernández, A., López Gómez, J.J., Urioste Fondo, A. y Cano Rodríguez, I. (2010). Impact of nutritional treatment in the evolution of inflammatory bowel disease. *Nutrición Hospitalaria*, 25, pp: 181-192.
- Brasse-Lagnel, C.G., Lavoine, A.M. y Husson, A.S. (2009). Control of mammalian gene expression by amino acids, specially glutamine. *Federation of the European Biochemical Societies Journal*, 276, pp: 1.826-1.844.
- Cardona, P. (1998). Administration of glutamine and its dipeptides in parenteral nutrition. Which patients are candidates? *Nutrición Hospitalaria*, 13, pp: 8-20.
- De Legge, M.H. (2008). Enteral feeding. *Current opinion in gastroenterology*, 24 pp: 184-189.
- Dinamarca (2011). Lovtidende A. Bekendtgørelse om tilsaetning af visse andre stoffer end vitaminer og mineraler til fodevarer. Udgivet den 13 august 2011, Nr 888, 12 august 2011.
- EFSA (2009). European Food Safety Authority. Panel on Dietetics Products, Nutrition and Allergy (NDA). Scientific opinion on the substantiation of health's claims related to glutamine and immune health (ID733) and the integrity of the intestinal lining and normal intestinal permeability (ID1602) pursuant to article 13 (1) of regulation EC No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 7, pp: 1.249.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Panel on Dietetics Products, Nutrition and Allergy (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to L-glutamine and growth or maintenance of muscle mass (ID 719, 722, 3185), faster restoration of muscle glycogen stores after strenuous exercise (ID 434, 699, 701, 723, 1569), skeletal muscle tissue repair (ID 721), maintenance of normal neurological function (ID 662, 700), increased attention (ID 700, 1570), improvement of working memory (ID 700, 1570), maintenance of defence against pathogenic gastro-intestinal microorganisms (ID 452), gut protein synthesis (ID 701), decreasing gut permeability (ID 701), and stimulating immunological responses (ID 1568) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9, pp: 2.252.
- Garlick, P.J. (2001). Assessment of the safety of glutamine and other amino acids. *Journal of Nutrition*, 131, pp: 2.556S-2.561S.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Kuhn, K.S., Muscaritoli, M., Wischmeyer, P. y Stehle, P. (2010). Glutamine as indispensable nutrient in oncology: experimental and clinical evidence. *European Journal of Nutrition*, 49, pp: 197-210.
- Stanley, C.A. (2009). Regulation of glutamate metabolism and insulin secretion by glutamate dehydrogenase in hypoglycemic children. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90, pp: 862S-866S.
- VKM (2011). Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Risk categorisation of 30 amino acids and amino acid compounds. Disponible en: http://www.english.vkm.no/eway/default.aspx?pid=278&trg=Content_6444&Main_6359=6582:0:31,2557&6606=6597:4&Content_6444=6393:1899169::0:6597:24:::0:0 [acceso: 27-03-12].

Wenerban, J. (2008). Clinical uses of glutamine supplementation. *Journal of Nutrition*, 37, pp: 2.040S-2.044S.

Wu, G (2009). Amino acids: metabolism, functions and nutrition. *Amino acids*, 37, pp: 1-17.

Xi, P., Jiang, Z., Zheng, C., Lin, Y. y Wu, G. (2011). Regulation of protein metabolism by glutamine: implications for nutrition and health. *Frontiers in Bioscience*, 16, pp: 578-597.

5.9 L-histidina

5.9.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión de la L-histidina en el Real Decreto 1487/2009 con una cantidad máxima diaria de 750 mg.

La propuesta basa en que el Reglamento (CE) N° 953/2009 (UE, 2009) incluye a la L-histidina entre las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial.

En Bélgica la L-histidina está autorizada en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Bélgica, 1992).

En Italia está autorizada en complementos alimenticios (propuesta legislativa) una cantidad máxima diaria de 1.120 mg de L-histidina (Italia, 2012).

5.9.2 Características y fuentes

L-histidina (His) $C_6H_9N_3O_2$ es un aminoácido esencial para los niños.

El carácter esencial de la L-histidina está bien establecido en la actualidad. Se sabe que este aminoácido no se puede sintetizar en el organismo pero, por otra parte, es difícil demostrar su deficiencia debido a que es un aminoácido muy abundante en la hemoglobina y en las proteínas musculares. En el músculo hay dipéptidos carnosina y anserina que contienen L-histidina (Sánchez de Medina, 2010).

La L-histidina es un importante componente de la hemoglobina (8 %). Las dietas sin L-histidina disminuyen la tasa de eritropoyesis y en adultos disminuye la hemoglobinemia, cambios que revierten cuando se restaura el aporte de L-histidina (Kopple y Swendseid, 1975). También el dipéptido carnosina, que se encuentra en el músculo esquelético, es un gran depósito de L-histidina (Christman, 1971). Gracias a que el *pool* de L-histidina en el organismo es grande se requiere un período de tiempo prolongado (más de 60 días) para deplecionar la L-histidina en un adulto.

5.9.3 Nutrición y metabolismo

La L-histidina es un importante componente de la hemoglobina y es el precursor de la histamina que se forma por descarboxilación de la L-histidina mediante la L-histidina descarboxilasa.

L-histidina es necesaria para la regulación y utilización en el organismo de elementos traza como el cinc, cobre, hierro, manganeso y molibdeno.

La L-histidina se degrada mayoritariamente en el hígado y en las células de la piel. El proceso comienza con la desaminación del aminoácido por acción de la histidasa formándose ácido urocánico. Éste ácido se hidroliza y transforma, en varias etapas enzimáticas a glutamato en el hígado.

Las ingestas dietéticas recomendadas para adultos (mayores de 19 años) (IoM, 2005) son: AR-histidina: 11 mg/kg p.c./día; RDA-histidina: 14 mg/kg p.c./día (IoM, 2005).

Los requerimientos (OMS, 2007) para adultos de L-histidina son 10 mg/kg p.c./día.

Basándose en la distribución de los datos de NHANES III (1988-1994), la ingesta media diaria de L-histidina procedente de los alimentos y complementos alimenticios para todos los grupos de edad, en todas las etapas de la vida, en hombres y mujeres es de 2,2 g/día. Las ingestas más elevadas corresponden al percentil 99 de los hombres de 51 a 70 años y su valor es de 5,2 g/día (IoM, 2005).

5.9.4 Seguridad

Efectos adversos en animales

La administración de L-histidina por inyección intraperitoneal o intravenosa se ha visto que provoca cambios en el contenido de aminoácidos en el cerebro (Oishi et al., 1989) y de histamina (Schwartz et al., 1972). Ratas jóvenes, de 4 a 5 semanas de edad, tratadas con un inhibidor de la histidinasa muestran una disminución en su actividad locomotora tras recibir una inyección intraperitoneal de L-histidina (250 mg/kg p.c.) (Dutra-Filho et al., 1989). Pilc et al. (1982) señalan un "comportamiento extraño" en ratas a las que se le había administrado L-histidina a la concentración de 400 a 800 mg/kg p.c. por vía intraperitoneal. Estos efectos no han sido señalados en ratas a las que se les había suministrado L-histidina por vía oral.

Dietas de bajo contenido proteico enriquecidas con L-histidina, administradas a ratas, durante 3 a 4 semanas, provocan pérdidas significativas de peso al cabo de algunos días. Sin embargo, los efectos disminuyen cuando se añaden a la dieta cantidades crecientes de proteínas de calidad elevada (Benevenga y Steele, 1984).

En estudios en ratas alimentadas durante cortos periodos de tiempo (7 a 46 días), con entre 2 y 4 g/kg p.c./día de L-histidina se ha observado un retraso en el crecimiento, hepatomegalia e hipercolesterolemia (Solomon y Geison, 1978) (Harvey et al., 1981) (Ohmura et al., 1986) (Hitomi-Ohmura et al., 1992). Harvey et al. (1981) señalaron reducciones significativas de las concentraciones plasmáticas de cobre y cinc y una disminución del contenido de cobre en hígado de ratas tras recibir, durante 46 días, dietas que contenían un 8 % de L-histidina (~4 g/kg p.c.). La hipercolesterolemia se elimina con una dieta enriquecida simultáneamente con L-histidina y cobre, lo que apoya la hipótesis de que la hipercolesterolemia inducida por la L-histidina es una consecuencia de cambios en el estado en cobre. La administración a ratones vía oral de 1,3 g L-histidina/kg p.c. durante 21 días provocó un aumento en la absorción y la utilización de cinc, así como a mayores contenidos de cinc en hígado, tejido muscular, bazo y páncreas (Van Wouwe et al., 1989).

Se estudió la toxicidad a largo plazo y la carcinogenicidad del monohidrato de L-histidina (HMHC) en 50 ratas macho y 50 ratas hembra (Ikezaki et al., 1996). A las ratas macho se les administraron dietas que contenían 0,47 y 0,96 g/kg p.c./día de HMHC durante 104 semanas; y a las hembras 0,56 y 1,1 g/kg p.c./día durante el mismo período de tiempo. No se observaron aumentos significativos en la aparición de tumores relacionados con el tratamiento cuando se comparó con controles apareados. Tampoco se mencionaron cambios neoplásicos ni en los grupos control ni en tratamiento. En las ratas macho que recibieron 0,96 g of HMHC/kg p.c./día se observaron aumentos en el recuento de glóbulos rojos, concentración de hemoglobina y hematocrito. No se observaron pruebas de granuloma espermático en ratas macho que recibieron bien sea 1,6 g de HMHC/kg p.c./día durante 13 semanas o 0,97 g/kg p.c./día durante 104 semanas (Ikezaki et al., 1996).

Efectos adversos en humanos

Treinta pacientes reumatoides y 20 controles recibieron diariamente, durante 30 semanas, cápsulas de 4,5 g de L-histidina en un ensayo doble ciego, seguido por un tratamiento abierto en el que 19 pacientes recibieron la misma dosis durante otros 10 meses. Los autores del estudio (Pinals et al., 1977) indican

la ausencia de efectos adversos como consecuencia de la terapia con L-histidina, aunque no está claro cuáles fueron los efectos adversos examinados. De forma similar en un ensayo con diseño doble ciego se trataron 42 pacientes (16 urémicos crónicos y 26 sometidos a diálisis de mantenimiento) con dosis orales de 4 g de L-histidina/día, durante 17,5 semanas. No mencionaron efectos adversos, aunque del informe tampoco se desprende cuáles se examinaron (Blumenkrantz et al., 1975).

Los estudios de los efectos de la L-histidina sobre la agudeza del gusto y el olfato han dado resultados contradictorios. Henkin et al. (1975) señalan una disminución de la agudeza en ambos sentidos en seis pacientes a los que administraron de 8 a 65 g de L-histidina/día, durante 24 días. A la vista del aumento en la excreción urinaria de cinc y de la disminución de su concentración sérica, los autores postulan que los efectos de la administración de L-histidina se deben a un estado deficitario de cinc. En otro estudio en el que se administró a ocho hombres sanos 4 g de L-histidina/día, durante 2 semanas no se mencionan efectos sobre la agudeza del olfato o el gusto (Schechter y Prakash, 1979). Lo mismo ocurrió en la administración de dosis orales de L-histidina, comprendidas entre 24 y 64 g/día, durante 4 semanas. Sin embargo, incluso a la dosis más baja (4 g/día) observaron efectos adversos tales como dolor de cabeza, debilidad, sopor y náusea, mientras que a las más elevadas (24 y 64 g/día) se informó de anorexia, sensación de dolor en los ojos y cambios en la agudeza visual en dos mujeres (Geliebter et al., 1981).

En niños que recibían nutrición parenteral total se menciona un incremento del 70 % en la excreción urinaria de cinc cuando el fluido contiene 165 mg de L-histidina/kg p.c./día, frente a los 95 mg de L-histidina/kg p.c./día de los controles. A pesar de tratarse de una administración parenteral proporciona pruebas adicionales de que en los humanos una ingesta de L-histidina en exceso puede provocar interacciones L-histidina/cinc, cuyo resultado es un estado deficitario en cinc (Zlotkin, 1989).

Evaluación de la dosis-respuesta

El estudio de Ikezaki et al. (1996) es el único dosis-respuesta en animales de ensayo relativo a la administración oral de L-histidina. No obstante, en él sólo se utilizaron dos dosis, ninguna de las cuales provocó efecto adverso alguno. Además, no se mencionan datos indicadores del posible efecto de las dosis sobre el metabolismo de cinc y de cobre, que se ha señalado tanto en el hombre como en animales de experimentación.

Debe señalarse que los estudios en seres humanos de evaluación de los efectos de la L-histidina, se diseñaron para estudiar su eficacia como agente terapéutico en algunas enfermedades, su objetivo no era obtener un UL en individuos aparentemente sanos, por lo que su utilidad para este fin es escasa. El estudio crónico de los efectos de la L-histidina administrada por vía oral a los roedores no se considera apropiado para la obtención de un UL.

Se dispone de pruebas sobre que en los seres humanos dosis de L-histidina de entre 4 y 4,5 g/día por encima de los contenidos de la dieta no provocan efectos adversos. Aunque estas pruebas deben considerarse tentativas por el escaso número de individuos estudiados y la falta de información relativa a la dosis-respuesta. Por otra parte, existen pruebas procedentes de estudios en animales de ensayo y en humanos del efecto de ingestas elevadas de L-histidina sobre el metabolismo del cobre y del cinc. Sin embargo, la falta de datos dosis-respuesta no permite identificar los aportes de L-histidina necesarios para

provocar dichas respuestas. De todo ello se concluye que los datos científicos disponibles no son adecuados para derivar un UL para la ingesta oral crónica de L-histidina de los complementos alimenticios.

5.9.5 Conclusión

El Comité Científico concluye, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 750 mg de L-histidina es del orden del requerimiento establecido por la OMS (Organización Mundial de la Salud) y por tanto, aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Bélgica (1992). Arrêté royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriments et des denrées alimentaires auxquelles des nutriments ont été ajoutés (Mon. 15.IV.1992).
- Benevenga, N.J. y Steele, R.D. (1984). Adverse effects of excessive consumption of amino acids. *Annual Review of Nutrition*, 4, pp: 157-181.
- Blumenkrantz, M.J., Shapiro, D.J., Swendseid, M.E. y Kopple, J.D. (1975). Histidine supplementation for treatment of anaemia of uraemia. *British Medical Journal*, 2, pp: 530-533.
- Christman, A.A. (1971). Determination of anserine, carnosine, and other histidine compounds in muscle extractives. *Analytical Biochemistry*, 39, pp: 181-187.
- Dutra-Filho, C.S., Wannmacher, C.M., Pires, R.F., Gus, G., Kalil, A.M. y Wajner, M. (1989). Reduced locomotor activity of rats made histidinemic by injection of histidine. *Journal of Nutrition*, 119, pp: 1.223-1.227.
- Geliebter, A.A., Hashim, S.A. y Van Itallie, T.B. (1981). Oral L-histidine fails to reduce taste and smell acuity but induces anorexia and urinary zinc excretion. *American Journal of Clinical Nutrition*, 34, pp: 119-120.
- Harvey, P.W., Hunsaker, H.A. y Allen, K.G. (1981). Dietary L-histidine-induced hypercholesterolemia and hypocupremia in the rat. *Journal of Nutrition*, 111, pp: 639-647.
- Henkin, R.I., Patten, B.M., Re, P.K. y Bronzert, D.A. (1975). A syndrome of acute zinc loss. Cerebellar dysfunction, mental changes, anorexia, and taste and smell dysfunction. *Archives of Neurology*, 32, pp: 745-751.
- Hitomi-Ohmura, E., Amano, N., Aoyama, Y. y Yoshida, A. (1992). The effect of a histidine excess diet on cholesterol synthesis and degradation in rats. *Lipids*, 27, pp: 755-760.
- Ikezaki, S., Nishikawa, A., Furukawa, F., Enami, T., Mitsui, M., Tanakamaru, Z., Kim, H.C., Lee, I.S., Imazawa, T. y Takahashi, M. (1996). Long-term toxicity/carcinogenicity study of L-histidine monohydrochloride in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, 34, pp: 687-691.
- IoM (2005). Institute of Medicine. DRI Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. The National Academies Press. Washington DC. www.nap.edu
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Kopple, J.D. y Swendseid, M.E. (1975). Evidence that histidine is an essential amino acid in normal and chronically uremic men. *Journal of Clinical Investigation*, 55, pp: 881-891.
- Ohmura, E., Aoyama, Y. y Yoshida, A. (1986). Changes in lipids in liver and serum of rats fed a histidine-excess diet or cholesterol-supplemented diets. *Lipids*, 21, pp: 748-753.
- Oishi, R., Furuno, K., Gomita, Y., Araki, Y. y Saeki, K. (1989). Effect of acute treatment of mice with L-histidine on the brain levels of amino acids. *Japanese Journal of Pharmacology*, 49, pp: 143-146.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].

- Pilc, A., Rogoz, Z. y Skuza, G. (1982). Histidine-induced bizarre behaviour in rats: The possible involvement of central cholinergic system. *Neuropharmacology*, 21, pp: 781-785.
- Pinals, R.S., Harris, E.D., Burnett, J.B. y Gerber, D.A. (1977). Treatment of rheumatoid arthritis with L-histidine: A randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Journal of Rheumatology*, 4, pp: 414-419.
- Sánchez de Medina, F. (2010). Metabolismo de los aminoácidos. En libro: A. Gil. *Tratado de Nutrición*. Tomo 1. Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición, 2ª edición. Editorial Médica Panamericana.
- Schechter, P.J. y Prakash, N.J. (1979). Failure of oral L-histidine to influence appetite or affect zinc metabolism in man: A double-blind study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 32, pp: 1.011-1.014.
- Schwartz, J.C., Lampart, C. y Rose, C. (1972). Histamine formation in rat brain *in vivo*: Effects of histidine loads. *Journal of Neurochemistry*, 19, pp: 801-810.
- Solomon, J.K. y Geison, R.L. (1978). Effect of excess dietary L-histidine on plasma cholesterol levels in weanling rats. *Journal of Nutrition*, 108, pp: 936-943.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269 de 14 de octubre de 2009, pp: 9-19.
- Van Wouwe, J.P., Hoogenkamp, S. y Van den Hamer, C.J. (1989). Histidine supplement and Zn status in Swiss random mice. *Biological Trace Element Research*, 22, pp: 35-43.
- Zlotkin, S.H. (1989). Nutrient interactions with total parenteral nutrition: Effect of histidine and cysteine intake on urinary zinc excretion. *The Journal of Pediatric*, 114, pp: 859-864.

5.10 L-iso-leucina

5.10.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de L-iso-leucina de 1.500 mg. Dicha propuesta se basa en la ingesta de referencia proteica recomendada por la OMS para la población adulta (OMS, 2007).

En Italia está autorizada en complementos alimenticios (propuesta legislativa) una cantidad máxima diaria de 910 mg de L-iso-leucina (Italia, 2012) y en Bélgica la L-iso-leucina está autorizada en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Bélgica, 1992).

5.10.2 Características y fuentes

La L-iso-leucina (ácido 2-amino-3-metilpentanoico) es un alfa aminoácido de cadena ramificada alifático con la siguiente fórmula química $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$. Es considerado un aminoácido hidrofóbico y junto con la L-treonina es el único aminoácido que posee una cadena lateral de tipo quiral. Existen cuatro posibles estereoisómeros de la L-iso-leucina, pero en la naturaleza solo existe en su forma enantiomérica (ácido (2S,3S)-2-amino-3-metilpentanoico).

Aunque este aminoácido no se sintetiza en los animales, se encuentra en ellos a concentraciones relativamente altas. Las fuentes alimentarias de L-iso-leucina más importantes son los pescados (atún, pargo, mero y caballa), carnes (pollo, ternera, cordero y pavo), huevos y soja.

5.10.3 Nutrición y metabolismo

La L-iso-leucina es un aminoácido esencial y que por lo tanto no puede ser suministrado por el organismo.

La degradación de la L-iso-leucina comparte los dos primeros pasos con los otros aminoácidos de cadena ramificada. Por lo tanto, su catabolismo ocurre en el tejido muscular, donde sufre un proceso de transaminación reversible para dar lugar a alfa-ketoisocaproato. Posteriormente, sufre una descarboxilación oxidativa irreversible y da lugar a alfa-metil-butiril-CoA y a derivados del acil-CoA. Finalmente, tras varios pasos catabólicos se origina succinil-CoA y acetil-CoA, los cuales pueden ser usados como fuente de energía a través del metabolismo oxidativo, mediante el ciclo de Krebs en el músculo. En sus fases finales del catabolismo, la L-iso-leucina origina acetil-CoA y propionil-CoA, por eso es considerado un aminoácido glucogénico y cetogénico (IoM, 2005) (Lehninger, 2005). La presencia de biotina es necesaria para el catabolismo de la L-iso-leucina.

La L-iso-leucina sirve como base estructural para la síntesis de proteínas, pero además interviene en la síntesis de proteínas, es una fuente de energía para el músculo en ausencia de glucógeno y regula el metabolismo de la glucosa (Yoshizawa, 2012). En este sentido se ha visto que la L-iso-leucina estimula la captación de glucosa por el músculo, incrementa la oxidación corporal total de la glucosa y disminuye la gluconeogénesis hepática. Todos estos efectos le confieren un carácter hipoglucemiante (Yoshizawa, 2012). Además, interviene en la síntesis de la hemoglobina y en la agregación plaquetaria (Honig, 1967).

En la actualidad no existen datos experimentales a partir de los cuales se puedan calcular los requerimientos de L-iso-leucina. Así pues, dado que la L-iso-leucina es un aminoácido ramificado como la L-leucina, comparte con ella vías catabólicas de oxidación y los requerimientos diarios reflejan principalmente los niveles basales de su catabolismo, el informe técnico conjunto de la FAO/OMS/UNU ha estimado los requerimientos de L-leucina asumiendo una proporcionalidad con la L-leucina y teniendo en cuenta la

proporción de L-isoleucina en las proteínas corporales. Según estos cálculos, los requerimientos de L-isoleucina son 20 mg/kg p.c./día (OMS, 2007).

La ingesta diaria habitual de L-leucina en la población occidental se sitúa en 3-4 g/persona día, aunque los adultos varones, entre 50-70 años, pueden llegar a consumir 8 g/día (IoM, 2005).

5.10.4 Seguridad

Existen muy pocos estudios, tanto en animales de experimentación, como en humanos, donde se evalúe la toxicidad de la L-isoleucina de un modo aislado y no como integrante de los otros aminoácidos de cadena ramificada o formando parte de un tripéptido (L-isoleucina-prolina-prolina).

Un estudio de toxicidad aguda en ratas (2,0 g/kg p.c./día, 14 días vía oral) no encontró ningún efecto adverso (EFSA, 2010). En experimentos llevados a cabo en lechones a los que se les suministraban dosis de L-isoleucina 10 veces superiores a las habituales, durante 3 semanas, no se encontró ningún efecto adverso (EFSA, 2010). Existe un estudio de toxicidad subcrónica en ratas en el que se administra, durante 13 semanas por vía oral, dosis de hasta 3,2 g/kg p.c./día. En dosis de hasta 2,0 g/kg p.c./día no se ve ningún efecto adverso. En la dosis de 3,2 g/kg p.c./día solo se observa un ligero incremento en el tamaño de los riñones y en el volumen de orina (Kawabe et al., 1996). Los trabajos de mutagenicidad y genotoxicidad realizados en cuatro cepas de salmonela y *Escherichia coli* no mostraron ninguna alteración (EFSA, 2010). Por otro lado, la capacidad de la isoleucina para producir mutagénesis fue testada en una línea de linfoma de ratón y en la línea CHO. En ninguno de los dos casos, con dosis de hasta 1,31 mg/ml se encontraron alteraciones cromosómicas (EFSA, 2010). Los estudios de toxicidad crónica en ratas emplean dosis de hasta 5,0 g/kg p.c./día durante 104 semanas. En la dosis más alta se encontraron ligeras modificaciones analíticas, un incremento no significativo del tamaño de los riñones y una reducción pequeña del tamaño de los testículos, en ratas machos (EFSA, 2010). Además, los estudios sobre la toxicidad de la L-isoleucina en la función reproductiva y el desarrollo embrionario han demostrado que dosis de hasta 4,2 g/kg p.c./día, durante los 14 días previos al emparejamiento, no han producido ningún efecto sobre la fertilidad y el desarrollo embrionario (EFSA, 2010). Lo mismo ocurrió cuando la L-isoleucina se administró en dosis de hasta 5,0 g/kg p.c./día, desde la fertilización hasta el nacimiento (EFSA, 2010).

No obstante, hay que señalar que existen discrepancias en cuanto a un posible efecto de la L-isoleucina en el desarrollo del cáncer de vejiga. Nishio et al. (1986) en un ensayo en ratas, en los que se administra L-isoleucina durante 40-60 semanas, tras la inducción de tumores de vejiga con nitrosamina, comprobaron un incremento significativo en el desarrollo del cáncer de vejiga. En cambio, Kawabe et al. (2006) en un estudio similar, en el que se emplearon dosis de hasta 3,2 g/kg p.c./día, no vieron ningún efecto carcinogénico.

Todos estos estudios han llevado a EFSA a establecer un NOAEL de 0,92 g/kg p.c./día (EFSA, 2010).

5.10.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, aunque no existen trabajos de toxicidad en humanos, los estudios de toxicidad en distintos modelos animales establecen que hay un alto nivel de tolerancia a la L-isoleucina. Por otro lado, los datos de ingestas medias de L-isoleucina en humanos oscilan entre 3 y 8 g/persona/día. Por tanto, considera que en función de la información disponible en la actualidad la propuesta de la

AESAN de una cantidad máxima diaria de 1.500 mg de L-iso-leucina es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Bélgica (1992). Arrêté royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriments et des denrées alimentaires auxquelles des nutriments ont été ajoutés (Mon. 15. IV.1992).
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Panel on Additives and Products or substances used in Animal Feed (FEEDAP) and EFSA Panel on Genetically modified Organisms (GMO). (2010) Scientific opinion on the safety and efficacy of L-iso-leucine for all animal species. *The EFSA Journal*, 8, pp: 1.444.
- Honig, G.R. (1967). Inhibition of synthesis of fetal haemoglobin by an iso-leucine analogue. *Journal of Clinical Investigation*, 46, pp: 1.778-1.784.
- IoM (2005). Institute of Medicine. Protein and Amino Acids. In: *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)*. Washington, DC: Institute of Medicine (IoM), National Academy Press (NAP), pp: 589-768. Disponible en: <http://www.nap.edu/openbook.php?recordid=10490&page=589> [acceso: 27-11-12].
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Kawabe, M., Sano, M., Hagiwara, A., Tamano, S., Suzuki, S. y Shirai, T. (2006). Lack of carcinogenicity of L-iso-leucine in F344/DuCrj rats. *Food Chemistry*, 44, pp: 278-285.
- Kawabe, M., Takesada, Y., Tamano, S., Hagiwara, A., Ito, N. y Shirai T. (1996). Subchronic toxicity study of L-iso-leucine in F344 rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 47, pp: 499-508.
- Lehninger, A.L. (2005). En libro: *Lehninger principles of biochemistry* (4th ed.). New York: W.H Freeman.
- Nishio, Y., Kakizoe, T., Otan, M., Sato, S., Sugimura, T. y Fukushima, S. (1986). L-iso-leucine and L-leucine: tumor promoters of bladder cancer in rats. *Science*, 231, pp: 843-845.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- Yoshizawa, F. (2012). New therapeutic strategy for amino acid medicine: notable functions of branched chain amino acids as biological regulators. *Journal of Pharmacological Science*, 118, pp: 149-155.

5.11 L-leucina

5.11.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de L-Leucina de 2.950 mg. Dicha propuesta se basa en la ingesta de referencia proteica recomendada por la OMS para la población adulta (OMS, 2007).

En Italia está autorizado en complementos alimenticios (propuesta legislativa) una cantidad máxima diaria de 1.330 mg de L-leucina (Italia, 2012) y en Bélgica la L-leucina está autorizada en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Bélgica, 1992).

5.11.2 Características y fuentes

La L-leucina es un alfa aminoácido de cadena ramificada con la siguiente fórmula química $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$. Es considerado un aminoácido hidrofóbico.

Se trata del aminoácido más abundante en los tejidos y las proteínas alimentarias. Las fuentes alimentarias de L-leucina más importantes son la soja, ternera, cacahuets, pescado, germen de trigo, almendras, pollo, huevos y avena.

5.11.3 Nutrición y metabolismo

La L-leucina es un aminoácido esencial y que, por lo tanto, no puede ser suministrado por el organismo. La L-leucina es absorbida en el intestino delgado en su forma libre o formando parte de péptidos. Posteriormente es transportada al hígado, donde una parte de ella se usa para la síntesis de proteínas y el resto se distribuye a los distintos tejidos del cuerpo (PDNRS, 2008).

La mayor parte del metabolismo de la L-leucina ocurre en el tejido muscular, donde sufre un proceso de transaminación reversible para dar lugar a alfa-ketoisocaproato. Posteriormente, sufre una descarboxilación oxidativa irreversible y da lugar a isovaleril-CoA y a derivados del acil-CoA. Finalmente, tras varios pasos catabólicos se origina acetoacetato y acetil-CoA, los cuales pueden ser usados como fuente de energía a través del metabolismo oxidativo (IoM, 2005). La urea resultante del catabolismo de la L-leucina es eliminada por los riñones. En general, los mamíferos tienen una alta capacidad de metabolizar la L-leucina, siendo el máximo nivel de oxidación de 8,9 g/kg p.c./día (Sakai et al., 2004).

La L-leucina sirve como base estructural para la síntesis de proteínas, pero además es un potente activador de la diana de mamíferos rapamicina (mTOR), una quinasa serina/treonina implicada en numerosos procesos celulares. Como consecuencia de esto la L-leucina ejerce numerosas funciones metabólicas, las cuales dependen de su concentración intracelular. Entre esas funciones se pueden destacar: i) estimula la síntesis de proteínas; ii) controla la saciedad actuando directamente sobre el hipotálamo y estimulando la liberación de leptina; iii) controla el peso corporal disminuyendo la masa grasa; iv) controla el gasto energético; y v) mejora el metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la misma (Li et al., 2011). Finalmente, la L-leucina puede actuar como fuente de energía para el músculo, en ausencia de glucógeno (MacDonald et al., 2005).

De acuerdo con el informe técnico conjunto de la FAO/OMS/UNU los requerimientos de L-leucina en los adultos son 39 mg/kg p.c./día (OMS, 2007). Para los niños lactantes los requerimientos están entre 90 y 165 mg/kg p.c./día (OMS, 2007). Para los niños y adolescentes los valores oscilan entre 39 y 73 mg/kg p.c./día (OMS, 2007). La ingesta diaria habitual de L-leucina en la población occidental se sitúa entre

6 y 9 g/persona día, aunque los adultos varones, entre 50-70 años, pueden llegar a consumir 14 g/día (IoM, 2005).

5.11.4 Seguridad

Los estudios toxicológicos llevados a cabo en animales de experimentación, así como los ensayos clínicos y de intervención nutricional en humanos indican que el grado de tolerancia a la L-leucina es alto y que su toxicidad es baja.

Tsubuku et al. (2004), en un estudio llevado a cabo en ratas durante 13 semanas establecieron un NOAEL de 3,33 (ratas hembras) y 3,83 (ratas machos) g/kg p.c./día para la ingestión oral de L-leucina. En el caso de la función reproductiva y del desarrollo embrionario, el NOAEL es de 1,0 g/kg p.c./día (Sakai et al., 2004).

Los ensayos de mutagenicidad muestran que a concentraciones de hasta 2 mM, la L-leucina no produjo ninguna alteración en distintas cepas de *E. coli* (Sargentini y Smith, 1986). Por otro lado, hay evidencias científicas de que la L-leucina no potencia el crecimiento de células neoplásicas, sino que incluso a altas concentraciones disminuye su proliferación (Wakshlag et al., 2006).

Los trabajos llevados a cabo en humanos corroboran los datos ya existentes sobre la seguridad de la L-leucina en animales de experimentación. En sujetos sanos, la ingesta de 45 mg/kg p.c./día, durante 3 meses no produjo ningún efecto adverso (Verhoeven et al., 2009). Hay estudios en los que se administra por vía oral incluso 24 g/día sin encontrar efectos adversos (Scarna et al., 2003).

5.11.5 Conclusión

Aunque no se ha podido establecer un NOAEL o LOAEL para la ingestión oral de L-leucina, de los estudios revisados se puede concluir que: i) la ingesta habitual de L-leucina, en la población, se sitúa entre 6 y 9 g/persona/día; ii) la capacidad de metabolizar L-leucina es elevada (8,9 g/kg p.c./día); y iii) los sujetos sanos pueden tolerar durante largos periodos ingestas de 45 mg/kg p.c./día.

Por todo ello, Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, una cantidad máxima diaria de 3.000 mg de L-leucina es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Bélgica (1992). Arrêté royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriments et des denrées alimentaires auxquelles des nutriments ont été ajoutés (Mon. 15. IV.1992).
- IoM (2005). Institute of Medicine. Protein and Amino Acids. In: *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, f a t, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)*. Washington, DC: Institute of Medicine (IoM), National Academy Press (NAP), pp. 589-768. Disponible en: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=104908&page=589 [acceso: 27-11-12].
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Li, F., Yin, Y., Tan, B., Kong, X. y Wu, G. (2011). Leucine nutrition in animals and humans: mTOR signaling and beyond. *Amino Acids*, 41, pp: 1.185-1.193.

- MacDonald, M.J., Fahien, L.A., Brown, L.J., Hassan, N.M., Buss, J.D. y Kendrick, M.A. (2005). Perspective: emerging evidence for signaling roles of mitochondrial anaplerotic products in insulin secretion. *American Journal of Physiology -Endocrinology and Metabolism*, 288, pp: E1-E5.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- PDRNS (2008). Branch-chain amino acids (L-leucine, L-isoleucine, L-valine). In: *PDR® for Nutritional Supplements, 2nd edition*. Montvale (NJ): Physicians' Desk Reference (PDR), pp: 100-104.
- Sakai, R., Miura, M., Amao, M., Kodama, R., Toue, S., Noguchi, Y. y Kimura, T. (2004). Potential approaches to the assessment of amino acid adequacy in rats: a progress report. *Journal of Nutrition*, 134, pp: 1.664S-1.672S.
- Sargentini, N.J. y Smith, K.C. (1986). Mutagenesis by normal metabolites in *Escherichia coli* phenylalanine mutagenesis is dependent on error-prone DNA repair. *Mutation Research*, 161, pp: 113-118.
- Scarna, A., Gijsman, H.J., McTavish, S.F., Harmer, C.J., Cowen, P.J. y Goodwin, G.M. (2003). Effects of a branched-chain amino acid drink in mania. *British Journal of Psychiatry*, 182, pp: 210-213.
- Tsubuku, S., Hatayama, K., Katsumata, T., Nishimura, N., Mawatari, K., Smriga, M. y Kimura, T. (2004). Thirteen-week oral toxicity study of branched-chain amino acids in rats. *International Journal of Toxicology*, 23, pp: 119-126.
- Verhoeven, S., Vanschoonbeek, K., Verdijk, L.B., Koopman, R., Wodzig, W.K., Dendale, P. y VanLoon, L.J. (2009). Long-term leucine supplementation does not increase muscle mass or strength in healthy elderly men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89, pp: 1.468-1.475.
- Wakshlag, J.J., Kallfelz, F.A., Wakshlag, R.R. y Davenport, G.M. (2006). The effects of branched-chain amino acids on canine neoplastic cell proliferation and death. *Journal of Nutrition*, 136, pp: 2.007S-2.010S.

5.12 L-lisina

5.12.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de 2.250 mg de L-lisina. Dicha propuesta se basa en la ingesta de referencia proteica recomendada por la OMS para la población adulta (OMS, 2007).

En Italia está autorizado en complementos alimenticios (propuesta legislativa) una cantidad máxima diaria de 1.120 mg de L-lisina (Italia, 2012) y en Bélgica la L-lisina está autorizada en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2012) (Bélgica, 1992).

En Dinamarca el clorhidrato de L-lisina está autorizado en complementos alimenticios con una cantidad total máxima que no debe superar los 100 mg por dosis diaria recomendada (Dinamarca, 2011).

5.12.2 Características y fuentes

La L-lisina es un alfa aminoácido cuya fórmula química es $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$. Es un aminoácido de carácter básico.

Las fuentes alimentarias de L-lisina más importantes son los alimentos de origen proteico huevos, carnes, queso y algunos pescados (especialmente las sardinas y el bacalao). La soja también es rica en L-lisina.

La L-lisina también se usa en su forma de monohidroclorhidrato como un ingrediente alimentario en niveles de hasta el 1,55 % (1,2 % de L-lisina) (FDA, 2011). Su función es reducir la formación de acrilamidas en los procesos de frituras.

EFSA ha publicado una opinión científica relativa a la verificación de declaraciones de salud relativas a la L-lisina: i) mejora de la respuesta inmune frente al virus herpes; ii) regulación de los niveles de LDL-colesterol; iii) incremento del apetito; iv) incremento de la síntesis de proteínas; v) mantenimiento de la masa ósea; y vi) aumento de la masa ósea. Basándose en la información presentada, el Panel NDA de EFSA no encuentra que sea posible establecer relación causa-efecto alguna en ninguno de los casos (EFSA, 2011).

5.12.3 Nutrición y metabolismo

Al ser un aminoácido esencial no puede ser sintetizado por el organismo. Su catabolización tiene lugar preferentemente en el hígado. Sus dos grupos nitrogenados son transferidos al alfa-cetoglutarato. Fuera del hígado, uno de los grupos nitrogenados es separado como amoníaco por la L-lisina oxidasa. Por último, su esqueleto carbonado origina acetoacetyl-CoA. Así pues, se trata de un aminoácido cetogénico.

Entre sus funciones están su incorporación al colágeno, dándole consistencia al mismo y es un precursor de la L-carnitina. Además, interviene en la síntesis de proteínas y en la absorción intestinal del calcio.

De acuerdo con el informe técnico conjunto de la FAO/OMS/UNU los requerimientos de L-lisina en los adultos oscilan entre 12 y 30 mg/kg p.c./día, según el tipo de estudio empleado (trazadores isotópicos, oxidación del aminoácido o balance nitrogenado) (OMS, 2007). Para los niños lactantes los requerimientos son 103 mg/kg p.c./día (OMS, 2007). Para los niños y adolescentes los valores oscilan entre 30 y 64 mg/kg p.c./día (OMS, 2003). Para un adulto sano la ingesta media de L-lisina oscila entre 7 y 16 mg/kg p.c./día (FDA, 2011). Los estudios de Flodin (1997) y la *Food and Drug Administration* (FDA, 2011) indican que en personas que consumen grandes cantidades de aperitivos, la ingesta diaria de L-lisina puede llegar a oscilar entre 3,5 y 4 g/día.

5.12.4 Seguridad

Los estudios sobre los efectos teratogénicos de la L-lisina, así como sobre la reproducción en animales de experimentación muestran que dosis de hasta 2,25 g/kg p.c./día, no son perjudiciales (Funk et al., 1991). Además, en un estudio llevado a cabo en mujeres con hiperlisinemia familiar (niveles plasmáticos de L-lisina de hasta 10 veces superiores a los normales), se pudo observar que una mujer dio a luz a un bebé normal (Dancis et al., 1983).

La DL₅₀ oral para la L-lisina es de 10 g/kg p.c. (Breglia et al., 1973). En un estudio de toxicidad subcrónica realizado en ratas durante 13 semanas (Tsubuku et al., 2004) no se encontró ninguna alteración. Este trabajo estableció un NOAEL para la L-lisina de 3,6 g/kg p.c./día. En los trabajos de toxicidad crónica en ratas se emplearon dosis de 740 mg/kg p.c./día durante 2 años, no encontrándose ningún efecto adverso (Flodin, 1997). Todo esto nos lleva a afirmar que la toxicidad de la L-lisina es baja.

Los estudios realizados en humanos confirman los datos obtenidos en los animales. En este sentido, la suplementación entre 1,0 y 3,0 g/día, durante 6 meses, en individuos sanos no produjo ningún efecto adverso (Flodin, 1997). Ese mismo trabajo comprobó que la L-lisina era también muy bien tolerada en bebés y niños. El empleo de dosis diarias de entre 0,4 y 1,5 g/día de L-lisina, durante hasta 3 años, para tratar el herpes simple, no produjo efectos secundarios (Griffith et al., 1978).

5.12.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 2.250 mg de L-lisina, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Bélgica (1992). Arrêté royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriments et des denrées alimentaires auxquelles des nutriments ont été ajoutés (Mon. 15. IV.1992).
- Breglia, R.J., Ward, C.O. y Jarowski, C.I. (1973). Effect of selected amino acids on ethanol toxicity in rats. *Journal of Pharmacological Science*, 62, pp: 49-55.
- Dancis, J., Hutzler, J., Ampola, M.G., Shih, V.E., van Gelderen, H.H., Kirby, L.T. y Woody, N.C. (1983). The prognosis of hyperlysinemia: an interim report. *American Journal of Human Genetics*, 35, pp: 438-442.
- Dinamarca (2011). Lovtidende A. Bekendtgørelse om tilsætning af visse andre stoffer end vitaminer og mineraler til fodevarer. Udgivet den 13 august 2011, Nr 888, 12 august 2011.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to L-lysine and immune defence against herpes virus (ID 453), maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 454, 4669), increase in appetite leading to an increase in energy intake (ID 610), contribution to normal protein synthesis (ID 609, 1612), maintenance of normal bone (ID 663, 1915), and increase in calcium absorption leading to an increase in calcium retention (ID 609, 1612) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9, pp: 2.084.
- FDA (2011). Food and Drug Administration. GRAS notification for L-lysine monohydrochloride. Federal Register (62FR-18939-18964).
- Flodin, N.W. (1997). The metabolic roles, pharmacology, and toxicology of lysine. *Journal of the American College of Nutrition*, 16, pp: 7-21.

- Funk, M.S.D.N., Worthington-Roberts, B. y Fantela, A. (1991). Impact of supplemental lysine or tryptophan on pregnancy course and outcome in rats. *Nutrition Research*, 11, pp: 501-512.
- Griffith, R.S., Norins, A.L. y Kagen, C. (1978). A multicentered study of lysine therapy in herpes simplex infection. *Dermatologica*, 156, pp: 257-267.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- Tsubuku, S., Mochizuki, M., Mawatari, K., Smriga, M. y Kimura, T. (2004). Thirteen-week oral toxicity study of L-lysine hydrochloride in rats. *International Journal of Toxicology*, 23, pp: 113-118.

5.13 L-metionina más L-cisteína

5.13.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria para la suma de L-metionina más L-cisteína de 1.100 mg y unas cantidades máximas diarias de 800 mg de L-metionina y de 300 mg de L-cisteína. Dicha propuesta se basa en la ingesta de referencia proteica recomendada por la OMS para la población adulta (OMS, 2007).

La propuesta se basa en que el Reglamento (CE) N° 953/2009 (UE, 2009) incluye a la L-cisteína entre las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos a alimentos destinados a una alimentación especial.

En Italia está autorizado en complementos alimenticios (propuesta legislativa) una cantidad máxima diaria de 1.190 mg de la suma de L-metionina y L-cisteína (Italia, 2012) y en Bélgica la L-metionina está autorizada en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Bélgica, 1992).

5.13.2 Características y fuentes

La L-metionina es un alfa aminoácido esencial, no polar, muy hidrofóbico, cuya fórmula química es $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$. La L-cisteína es un alfa aminoácido, neutro, esencial condicionado, cuya fórmula química es $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S} (\text{CH}_2\text{SH}-\text{CHNH}_2-\text{COOH})$. Ambos son aminoácidos azufrados.

Las fuentes alimentarias principales de L-metionina son los huevos, el pollo, los pescados y la carne, el queso, la soja, las semillas de sésamo y las nueces de Brasil. Las de L-cisteína son todos los alimentos de origen proteico animal y, además, los pimientos rojos, los ajos, las cebollas, las coles de Bruselas, el brócoli y la avena (USDA, 2009).

EFSA ha publicado una opinión científica relativa a la verificación de declaraciones de salud relativas a la L-metionina y el mantenimiento de las concentraciones de colesterol en sangre. Basándose en la información presentada, el Panel NDA de EFSA no encuentran que sea posible establecer relación causa-efecto (EFSA, 2010).

5.13.3 Nutrición y metabolismo

Tanto la L-metionina, como la L-cisteína son aminoácidos proteínogénicos. La L-metionina es el principal donador de grupos metilos. Su derivado S-adenosilmetionina sirve como donador de grupos metilos que pueden transferirse a otros compuestos. La L-metionina es un intermediario de la homocisteína, la L-cisteína y la taurina. La L-cisteína es un precursor de la taurina y forma parte del coenzima A y del glutatión. En este sentido tiene funciones antioxidantes. Además, la L-cisteína interviene en la conjugación de xenobióticos y en la formación de leucotrienos. Finalmente, la L-cisteína juega un papel fundamental en el mantenimiento de la estructura cuaternaria de las proteínas, gracias a su capacidad para formar puentes disulfuros intracatenarios (Brosnan y Brosnan, 2006).

En condiciones fisiológicas normales, el organismo puede obtener L-cisteína en cantidad suficiente. Aunque los recién nacidos pretérmino no pueden sintetizarla y deben obtenerla a través de la dieta.

El metabolismo de la L-metionina comienza con su paso a S-adenosilmetionina en una reacción con el ATP y en la que interviene la enzima L-metionina adenosiltransferasa. Posteriormente, la S-adenosil-

silmetonina transfiere su grupo metilo a otro aceptor y se forma S-adenosilhomocisteína, compuesto este último que se hidroliza originando homocisteína (Brosnan y Brosnan, 2006). La L-cisteína como aminoácido azufrado esencial condicional, se obtiene a partir de L-metionina y de serina. Concretamente, la enzima cistationina beta-sintasa puede dar cistationina, a partir de la homocisteína y la serina. Posteriormente, la cistationina se puede romper a L-cisteína y alfa-cetobutirato (Lehninger et al., 2000). Un aspecto importante de la L-cisteína es que puede oxidarse a cistina. Además, la L-cisteína se degrada a piruvato en dos etapas, eliminación de azufre y transaminación. La L-cisteína puede metabolizarse a taurina y CO_2 a través de la vía L-cisteína sulfinato, cuyo paso inicial es la oxidación, catalizada por la L-cisteína dioxigenasa, a cisteína sulfinato. La L-cisteína sulfinato puede descaboxilarse para dar taurina o metabolizarse vía beta-sulfinilpiruvato (supuesto intermediario) a piruvato y sulfito y a continuación a CO_2 y sulfato (Stipanuk, 1986).

Las ingestas dietéticas recomendadas para mayores de 19 años (IoM, 2005) son: i) AR para L-metionina + L-cisteína 15 mg/kg p.c./día y ii) RDA para L-metionina + L-cisteína 19 mg/kg p.c./día. Según la OMS (2007), los requerimientos para adultos son de 4 mg/kg p.c./día para la L-cisteína y de 15 mg/kg p.c./día para la L-cisteína + L-metionina. En cuanto al consumo diario de L-metionina, el estudio de Ward et al. (2000) basado en cuestionarios de frecuencia de consumo, estima que la ingesta media de L-metionina de un adulto sano es de $2,3 \pm 0,9$ g/día, con un intervalo de 0,5-5 g/día (7-70 mg/kg p.c./día). En el caso de los niños las ingestas medias oscilan entre 62 y 97 mg/kg p.c./día (Garlick, 2006). En Estados Unidos se ha estimado, a partir de los datos de NHANES III (1988-1994), la ingesta dietética media de L-cisteína procedente de los alimentos y de los complementos alimenticios en 1,0 g/día. La mayor ingesta corresponde a los hombres de edades comprendidas entre los 51 y 70 años y es de 2,2 g/día en el percentil 99 (CDC, 1997).

5.13.4 Seguridad

Seguridad de la L-cisteína

Dietas de bajo contenido proteico con contenidos de L-cisteína del 0,5 al 10 % reducen el aumento de peso y la ingesta de alimentos y en consecuencia se incrementa la mortalidad animal (Harper et al., 1970). También modifican la concentración plasmática de colesterol, que aumenta en las ratas que reciben dietas pobres en colesterol y disminuye en aquellas cuyas dietas son ricas en colesterol (Rukaj y Sérougne, 1983) (Sérougne y Rukaj, 1983) (Sérougne et al., 1987). Además, de forma sistemática se han señalado cambios histopatológicos en riñón e hígado (Harper et al., 1970).

Efectos agudos adversos en animales

La L-cisteína es mutagénica en bacterias (Glatt, 1989), pero no en células de mamíferos (Glatt, 1990).

Una dosis oral única de 3 g L-cisteína/kg p.c. provocó en ratones albinos *Swiss Webster* de 10 a 12 días de edad necrosis en las neuronas hipotalámicas y lesiones en la retina, que se detectaron 5 horas después de la toma (Olney y Ho, 1970). Asimismo, la inyección subcutánea de 1,2 mg de L-cisteína/kg p.c. a ratas *Wistar* de 9 a 10 días de edad provocó una distrofia permanente de las capas interiores de la retina (Karlsen y Pedersen, 1982).

La inyección intraperitoneal de 1,0 mmol L-cisteína/kg p.c. a ratas macho *Wistar* dio lugar a una concentración máxima en sangre de unos 2 mM a los 30 minutos (Calabrese et al., 1997). Al cabo de 1 hora,

la exposición provocó concentraciones elevadas de malondialdehído en la *substantia nigra* del cerebro. La inyección subcutánea de 0,5 g de L-cisteína/kg p.c. a ratas *Sprague-Dawley* de 4 días de edad no tuvo efecto ulterior en los neurotransmisores o sistemas neuropéptidos en el *striatum* a los 35 días de edad (Sivam y Chermak, 1992).

Se ha señalado que la administración aguda a ratas de una dosis de 1,9 g L-cisteína/kg provoca alteraciones ultraestructurales de células testiculares Sertoli y espermatidas (Bernacchi et al., 1993).

La L-cisteína se ha identificado como neuroexcitotoxina por su interacción con receptores N-metil-D-aspartato (NDMA) (Olney, 1994). La administración perinatal de L-cisteína a ratones o ratas con una barrera hematocefálica inmadura produce neurotoxicidad. En animales recién nacidos se observan efectos en el cerebro (hipotálamo) y retina similares a los inducidos por el ácido L-glutámico (Olney, 1994).

Efectos adversos agudos en humanos

Dosis orales únicas de 5 y 10 g de L-cisteína provocaron náuseas y un ligero mareo en seres humanos sanos (Carlson et al., 1989). Asimismo, en personas sanas a las que administraron dosis crecientes de hasta 20 g de L-cisteína (con tranilcipromina), se observó fatiga, mareos, náuseas e insomnio dependientes de la dosis (Davis et al., 1972).

No se dispone de información relativa a la administración crónica de L-cisteína a seres humanos.

La información disponible sobre los efectos adversos de la ingesta de L-cisteína y L-cistina procedente de complementos alimenticios no se considera suficiente para una evaluación dosis respuesta y la propuesta de una ingesta máxima tolerable (UL) para la L-cisteína (IoM, 2005).

Seguridad de la L-metionina

En los últimos 25 años se han realizado numerosos estudios sobre la toxicidad de la L-metionina en humanos. Estos trabajos han tratado de establecer una relación entre la ingesta de L-metionina, la elevación de los niveles plasmáticos de homocisteína y la disfunción endotelial. La prueba que más se ha usado se denomina test de carga de L-metionina. En este test de carga se administra habitualmente una dosis única de 100 mg de L-metionina/kg p.c. (aproximadamente unas siete veces la ingesta recomendada de aminoácidos azufrados (L-metionina + L-cisteína)) (Garlick, 2006). Tras el test de carga se ha comprobado que hay un aumento de los niveles circulantes de homocisteína, que son evidentes a las 2 horas y que alcanzan su máximo a las 4 horas. Este aumento de homocisteína produce una disfunción endotelial (Chambers et al., 1999). Investigaciones posteriores aclararon que la disfunción endotelial no era causada directamente por la L-metionina, sino que se debía al incremento de la homocisteinemia (Hanratty et al., 2001). No obstante, los estudios de los test de carga concluyen que los efectos observados son transitorios y que desaparecen transcurridas 4 horas tras la carga de L-metionina (Garlick, 2006). Por otro lado, se ha comprobado que ingestas de 100 mg/kg p.c. no son seguras en pacientes con esquizofrenia y con errores innatos del metabolismo de los aminoácidos azufrados (Garlick, 2006). Finalmente, un estudio de metaanálisis donde revisan varios trabajos en los que se llevan a cabo test de carga de L-metionina (unos 6.000 sujetos adultos en total) concluye que aparte del mencionado incremento transitorio de la homocisteinemia, la administración de una dosis única de L-metionina solo produce pequeños efectos secundarios (mareos, somnolencia, náuseas, poliuria y modificaciones ligeras de la tensión arterial). Hay

que señalar, sin embargo, que hay un estudio en el que, por error, a una persona se le administró una dosis 1 g de L-metionina/kg p.c. (aproximadamente unas 70 veces la ingesta recomendada de aminoácidos azufrados) y se produjo la muerte de la persona a los 30 días (Cottington et al., 2002).

En cuanto a la administración crónica de L-metionina se ha comprobado que la ingesta diaria, durante 1 semana, de 100 mg de L-metionina kg p.c./día induce un incremento prolongado de los niveles plasmáticos de homocisteína. Los autores del estudio concluyen que este tipo de ingestas no son seguras. En ese mismo trabajo se demostró que la ingesta de 250 mg diarios de L-metionina, durante 30 días, no produce ningún incremento significativo en los niveles plasmáticos de homocisteína, siendo por tanto esta dosis segura (McAuley et al., 1999). En niños solo existe un trabajo sobre los efectos tóxicos de la ingestas de dosis altas de L-metionina. En ese estudio se analiza que a un grupo de 10 niños se le administro por error una fórmula láctea con un contenido elevado de L-metionina. Las ingestas de L-metionina de los niños fueron entre 1,5 y 6,5 superiores a las habituales detectándose en ellos valores 250 veces superiores a los habituales de homocisteinemia. Sin embargo, a pesar de ello, no se observó efecto adverso alguno a largo plazo (Mudd et al., 2003).

5.13.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 300 mg de L-cisteína es inferior a los requerimientos de L-metionina + L-cisteína establecidos por la OMS y muy alejada de las dosis de L-cisteína que provocan mareos y náuseas, por lo que la considera aceptable desde el punto de vista de la seguridad en su uso como complemento alimenticio. Sin embargo, propone reducir la cantidad máxima diaria de L-metionina a 250 mg. Con esta modificación, la suma de la ingesta máxima diaria de los aminoácidos azufrados queda en 550 mg.

Referencias

- Bélgica (1992). Arrêté royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriments et de denrées alimentaires auxquelles des nutriments ont été ajouté (Mon. 15. IV.1992).
- Bernacchi, A.S., De Ferreyra, E.C., De Castro, C.R. y Castro, J.A. (1993). Ultrastructural alterations in testes from rats treated with cysteine. *Biomedical and Environmental Sciences*, 6, pp: 172-178.
- Brosnan, J.T. y Brosnan, M.E. (2006). The sulfur-containing amino acids: an overview. *Journal Nutrition*, 136, pp: 1.636-1.640.
- Calabrese, V., Rausa, N., Anticom, A., Mangiameli, S. y Rizza, V. (1997). Cysteine-induced enhancement of lipid peroxidation in substantia nigra: Comparative effect with exogenous administration of reduced glutathione. *Drugs Under Experimental and Clinical Research*, 23, pp: 25-31.
- Carlson, H.E., Miglietta, J.T., Roginsky, M.S. y Stegink, L.D. (1989). Stimulation of pituitary hormone secretion by neurotransmitter amino acids in humans. *Metabolism*, 38, pp: 1.179-1.182.
- CDC (1997). Center for Disease Control and Prevention. Third National Health and Nutrition Survey 1988-1984. Disponible en: <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes/nh3data.htm>. [acceso: 27-11-12].
- Chambers, J.C., McGregor, A., Jean-Marie, J., Obeid, O.A. y Kooner, J.S. (1999). Demonstration of rapid onset vascular endothelial dysfunction after hyperhomocysteinemia; an effect reversible with vitamin C therapy. *Circulation*, 99, pp: 1.156-1.160.
- Cottington E.M., Lamantia, C., Stabler, S.P., Allen, R.H., Tangerman, A., Wagner, C., Zeissel, S.H. y Mudd, S.H. (2002).

- Adverse event associated with methionine loading test, a case report. *Arteriosclerosis Thrombosis, and Vascular Biology*, 22, pp: 1.046-1.050.
- Davis, J.M., Spaide, J.K. y Himwich, H.E. (1972). Effects of tranlylcypromine and L-cysteine on plasma amino acids in controls and schizophrenic patients. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 25, pp: 302-310.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to methionine and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 706, 1615, 2913) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 8, pp: 1.758.
- Garlick, P.J. (2006). Toxicity of methionine in humans. *Journal of Nutrition*, 136, pp: 1.722S-1.725S.
- Glatt, H. (1990). Endogenous mutagen derived from aminoacids. *Mutation Research*, 238, pp: 235-243.
- Glatt, H. (1989). Mutagenicity spectra in *Salmonella typhimurium* strains of glutathione, L-cysteine and active oxygen species. *Mutagenesis*, 4, pp: 221-227.
- Hanratty, C.G., McGrath, L.T., McAuley, C. y Nugent, A.G. (2001). The effects of oral methionine and homocysteine on endothelial function. *Heart*, 185, pp: 326-330.
- Harper, A.E., Benevenga, N.J. y Wohlheuter, R.M. (1970). Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. *Physiological Reviews*, 50, pp: 428-558.
- IoM (2005). Institute of Medicine. DRI Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. The National Academies Press. Washington DC. Disponible en: www.nap.edu [acceso: 27-11-12].
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Karlsen, R.L. y Pedersen, O.O. (1982). A morphological study of the acute toxicity of L-cysteine on the retina of young rats. *Experimental Eye Research*, 34, pp: 65-69.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L. y Cox, M.M. (2000). En libro: *Principles of Biochemistry* (3rd ed.), New York: W. H. Freeman.
- McAuley, D.F., Hanratty, C.G., McGurk, C., Nugent, A.G. y Johnston, G.D. (1999) Effect of methionine supplementation on endothelial function, plasma homocysteine and lipid peroxidation. *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*, 37, pp: 435-440.
- Mudd, S.H., Braverman, N., Pomper, M., Tezka, K., Kronick, J., Jayakar, P., Garganta, C., Ampola, M.G. y Levy, H.L. (2003). Infantile hypermethioninemia and hyperhomocysteinemia due to high methionine intake: a diagnostic trap. *Molecular Genetics and Metabolism*, 79, pp: 6-16.
- Olney, J.W. y Ho, O.L. (1970). Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cysteine. *Nature*, 227, pp: 609-611.
- Olney, J.W. (1994) Excitotoxins in foods. *Neurotoxicology*, 15, pp: 535-544.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- Rukaj, A. y Sérougne, C. (1983). Effect of excess dietary cysteine on the biodynamics of cholesterol in the rat. *Biochimica et Biophysica Acta*, 753, pp: 1-5.
- Sérougne, C. y Rukaj, A. (1983). Plasma and lipoprotein cholesterol in rats fed L-amino acid-supplemented diets. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 27, pp: 386-395.
- Sérougne, C., Férézou, J. y Rukaj, A. (1987). A new relationship between cholesterolemia and cholesterol synthesis determined in rats fed an excess of cysteine. *Biochimica et Biophysica Acta*, 921, pp: 522-530.
- Sivam, S.P. y Chermak, T. (1992). Neonatal administration of L-cysteine does not produce long-term effects on neurotransmitter or neuropeptide systems in the rat striatum. *Research Communications Chemical Pathology Pharmacology*, 77, pp: 219-225.
- Stipanuk, M.H. (1986). Metabolism of the sulfur-containing amino acids. *Annual Review of Nutrition*, 6, pp: 179-209.

UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269 de 14 de octubre de 2009, pp: 9-19.

USDA (2009). United States Department of Agriculture. National Nutrient Data Base for Standard Reference. Disponible en: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list> [acceso: 16-03-13].

Ward, M., McNulty, H., Pentieva, K., McPartlin, J., Strain, J.J., Weir, D.G. y Scott, J.M. (2000). Fluctuations in dietary methionine intake does not alter plasma homocysteine concentrations in healthy men. *Journal of Nutrition*, 130, pp: 2.653-2.657.

5.14 L-ornitina-alfa-cetoglutarato

5.14.1 Propuesta

La AESAN propone una cantidad máxima diaria de L-ornitina-alfa-cetoglutarato de 2.000 mg. Dicha propuesta se basa en la autorización existente en Italia (propuesta legislativa) de una cantidad máxima diaria de 2 g/día en complementos alimenticios, con la advertencia de que no debe ser consumido por mujeres embarazadas, niños, ni durante periodos prolongados de tiempo sin control médico (Italia, 2012).

5.14.2 Características y fuentes

La L-ornitina-alfa-cetoglutarato (OCG) es una sal iónica que contiene dos moléculas de L-ornitina y una de alfa-cetoglutarato. La L-ornitina es un aminoácido necesario para el funcionamiento normal del ciclo de la urea. El alfa-cetoglutarato es el esqueleto carbonado del glutamato. Es un intermediario en el ciclo de Krebs y desempeña un importante papel en una gran variedad de reacciones de transaminación.

La OCG es un precursor de los aminoácidos L-glutamina, L-arginina y prolina y aumenta la secreción de hormonas anabólicas, como la insulina y la hormona de crecimiento.

5.14.3 Nutrición y metabolismo

El OCG estimula la liberación de insulina y de la hormona de crecimiento, al tiempo que aumenta los niveles de aminoácidos y de sus metabolitos, presumiblemente haciéndolos disponibles para la síntesis proteica. Asimismo, disminuye los marcadores catabólicos de degradación proteica. Aunque no se conoce bien su mecanismo de acción, se cree que las actividades metabólicas de la insulina y de la hormona de crecimiento contribuyen a la influencia de la OCG sobre el metabolismo proteico (Salvucci et al., 1987).

L-ornitina y alfa-cetoglutarato pueden seguir distintas vías metabólicas para producir un producto común, el ácido L-glutámico. Quizás ello explica la interacción metabólica entre el alfa-cetoglutarato y la L-ornitina durante la administración de la OCG. La L-ornitina procedente de la OCG podría aumentar los contenidos tisulares de poliamina que estimulara la síntesis de proteínas, RNA y DNA (Jeevanandam et al., 1988).

En los seres humanos la administración de una combinación molar 2:1 de L-ornitina y alfa-cetoglutarato modifica el metabolismo de los aminoácidos y los patrones hormonales de forma distinta a cuando ambos se administran por separado, lo que indica que se requiere la administración simultánea de L-ornitina y alfa-cetoglutarato para alcanzar los efectos anabólicos esperados (Vaubourdolle et al., 1988) (Cynober et al., 1990).

5.14.4 Seguridad

No se han encontrado estudios que evalúen la seguridad/toxicidad de la OCG. Aunque ésta se ha utilizado con éxito, por vía enteral y parenteral, en pacientes con quemaduras o traumatismos quirúrgicos y también en afectados por malnutrición crónica (Cynober et al., 1984a) (Leander et al., 1985).

Asimismo, se ha estudiado la cinética y los efectos metabólicos de la OCG administrada por vía oral. En un estudio se administró a 10 personas sanas (cinco hombres y cinco mujeres), sometidas a un régimen estandarizado, 10 g de OCG vía oral. La rápida disminución del contenido de L-ornitina en sangre a los valores basales, la ausencia de incremento de los contenidos de alfa-cetoglutarato y la eliminación de

urea por orina tras la administración de la OCG, muestran el intenso metabolismo y utilización de ambos compuestos. Ello indicaría que la hiperornitinemia observada, tras 4 horas de ayuno, en pacientes con traumatismos que reciben OCG, refleja más una alteración metabólica en la utilización de dicho aminoácido que una hipotética utilización lenta. Por otra parte la OCK induce un aumento en la insulinemia que provoca hipoglucemia y probablemente una disminución de los contenidos plasmáticos de distintos aminoácidos (Cynober et al., 1984b).

En otro trabajo estudiaron el metabolismo y la cinética de la L-ornitina y los metabolitos de OCG tras su administración a pacientes que habían sufrido quemaduras (35 hombres y 7 mujeres). Los pacientes se distribuyeron de forma aleatoria y se les administraron dosis orales de 10 g de L-ornitina (n=13), dosis de 10, 20 o 30 g/día en forma de infusión gástrica continua (durante 21 horas, n=13) o bien un control isonitrogenado (n=16). La OCG tuvo una vida media de 89 minutos y se metabolizó ampliamente para dar L-glutamina, prolina y L-arginina. La producción de prolina fue dosis-dependiente y cuantitativamente similar en las distintas formas de administración de la OCG. La producción de L-glutamina y L-arginina no fue dosis-dependiente y fue mayor en el grupo que recibió la dosis oral que en aquellos a los que se administró en forma de infusión (Le Bricon et al., 1997).

5.14.5 Conclusión

El Comité Científico considera que: 1) no se han encontrado estudios de evaluación de la seguridad/toxicidad de la L-ornitina-alfa-cetoglutaratato en humanos; 2) la OCG se metaboliza a L-glutamina, prolina y L-ornitina; 3) no se han mencionado efectos adversos al administrar dosis diarias de 10 g de OCG a personas sanas ni a pacientes con quemaduras. Por tanto, el Comité Científico concluye, que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, una cantidad máxima diaria de 2.000 mg de L-ornitina-alfa-cetoglutaratato es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

No se recomienda su uso a las mujeres embarazadas ni a los niños. Asimismo, no debe ser ingerido durante periodos prolongados de tiempo sin control médico.

Referencias

- Cynober, L.C. Coudray-Lucas, J., deBandt, J., Guechot, C., Aussel, M. y Salvucci, M. (1990). Action of ornithine alpha-ketoglutarate, ornithine hydrochloride, and calcium alpha-ketoglutarate on plasma amino acid and hormonal patterns in healthy subjects. *Journal of the American College of Nutrition*, 9, pp: 2-12.
- Cynober, L., Saizy, R., Nguyen Dinh, F., Lioret, N. y Giboudeau, J. (1984a). Effect of enterally administered ornithine alpha-ketoglutarate on plasma and urinary amino acid levels after burn injury. *Journal of Trauma*, 24, pp: 590-596.
- Cynober, L., Vaubourdolle, M., Dore, A. y Giboudeau, J. (1984b). Kinetics and metabolic effects of orally administered ornithine alpha-ketoglutarate in healthy subjects fed with a standardized regimen. *American Journal of Clinical Nutrition*, 39, pp: 514-519.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Jeevanandam, M., Holaday, N.J. y Petersen, S.R. (1992). Ornithine- α -Ketoglutarate (OKG) Supplementation Is more effective than its component salts in traumatized rats. *Journal of Nutrition*, 126, pp: 2.141-2.150.
- Le Bricon, T., Coudray-Lucas, C., Lioret, N., Lim, S.K., Plassart, F., Schlegel, L., De Bandt, J.P., Saizy, R., Giboudeau, J. y

- Cynober, L. (1997). Ornithine α -ketoglutarate metabolism after enteral administration in burn patients: bolus compared with continuous. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65, pp: 512-518.
- Leander, U., Fürst, P., Vesterberg, K. y Vinnars, E. (1985). Nitrogen sparing effect of Ornicetil® in the immediate post-operative state. I. Clinical biochemistry and nitrogen balance. *Clinical Nutrition*, 4, pp: 43-51.
- Salvucci, M., Cynober, L., Vaubourdolle, M., Coudray-Lucas, C., Guechot, J. y Giboudeau, J. (1987). Glucose load modified ornithine alpha-ketoglutarate metabolism and action in healthy subjects. *Clinical Nutrition*, 6, pp: 1-79.
- Vaubourdolle, M., Jardel, A., Coudray-Lucas, C., Ekindjian, O.G., Agneray, J. y Cynober, L. (1988). Metabolism and kinetics of parenterally administered ornithine and alpha-ketoglutarate in healthy and burned animals. *Clinical Nutrition*, 7, pp: 105-111.

5.15 L-aurina

5.15.1 Propuesta

La taurina figura en el informe de la Comisión Europea sobre sustancias presentes en complementos alimenticios en la Unión Europea (DG SANCO, 2008).

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de taurina de 1.000 mg. Dicha propuesta se basa en la autorización de esta sustancia en Dinamarca con una cantidad total máxima que no debe superar los 1.000 mg por dosis diaria recomendada (Dinamarca, 2011), aunque en Italia la cantidad de taurina autorizada en complementos alimenticios (propuesta legislativa) es de 500 mg/día (Italia, 2012).

El Reglamento (CE) N° 953/2009 (UE, 2009) incluye la taurina entre las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. En concreto, pueden añadirse en los alimentos dietéticos destinados a una alimentación especial, incluidos los alimentos destinados a usos médicos especiales, con exclusión de los preparados para lactantes, los preparados de continuación, los alimentos elaborados a base de cereales y los alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad.

Por su parte, la Directiva 2006/141/CE (UE, 2006) relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y su transposición en España a través del Real Decreto 867/2008 (BOE, 2008) permite, al establecer la composición básica de los preparados para lactantes cuando se reconstituyen de acuerdo con las instrucciones del fabricante, la utilización de taurina en una concentración que no debe superar 2,9 mg/100 kJ (12 mg/100 kcal).

5.15.2 Características y fuentes

La taurina (ácido 2-aminoetanosulfónico) es un aminoácido libre, de los más abundantes en el organismo, no está incorporado a las proteínas pero, sin embargo juega un papel decisivo en numerosas funciones fisiológicas importantes tales como conjugación de ácidos biliares, desarrollo neurológico y de la retina, osmoregulación, modulación de los niveles de calcio celular y de la función inmune (Huxtable, 1992, 1996). La taurina está presente en cantidades relativamente altas en la retina, músculo esquelético y en tejido cardíaco. La taurina se sintetiza endógenamente en el hígado a partir de la L-cisteína, mediante diversos pasos enzimáticos, por lo que se considera un aminoácido no esencial o condicionalmente esencial debido a que en algunos casos la producción endógena es insuficiente y se necesita que sea proporcionado a través de la dieta. La leche materna y las proteínas derivadas de la carne y el pescado son fuentes de taurina en la dieta (Rana y Sanders, 1986).

5.15.3 Nutrición y metabolismo

En la última década se ha propuesto un gran número de beneficios terapéuticos ligados a la suplementación en dieta de taurina que incluyen tratamiento de la diabetes (Franconi et al., 2006), hipertensión (Militante y Lombardini, 2002), fallo cardíaco (Sole y Jeejeebhoy, 2000), degeneración de la retina (Militante y Lombardini, 2004) y desórdenes del músculo esquelético (Trip et al., 2006). Las bebidas destinadas a deportistas contienen taurina debido principalmente a su alta concentración en el tejido muscular y por el papel que juega la taurina en la osmoregulación y en la modulación de los niveles de calcio celular (Seidl et al., 2000).

La taurina está involucrada en una amplia gama de procesos biológicos. Entre los principales efectos que han sido investigados se incluyen: 1) su actividad antioxidante, especialmente relevante a nivel mitocondrial; 2) efectos antiinflamatorios; 3) efectos sobre la homeostasis de glucosa; y 4) su acción osmoreguladora (Hansen, 2001).

Se ha demostrado que la diabetes está ligada al estrés oxidativo, así como a un descenso de los niveles de antioxidantes endógenos, particularmente de taurina (Shaffer et al., 2009). La taurina actúa como un poderoso antioxidante, previene la sobrecarga de calcio intracelular y restaura los niveles de enzimas antioxidantes lo que hace a la célula más resistente a los ataques tóxicos (Nonaka et al., 2001) (Wu et al., 2005). La taurina actúa como antioxidante, no como captador de especies de oxígeno reactivas (ROS) sino más bien, inhibiendo la generación de éstas o interfiriendo en sus acciones oxidantes. Sin embargo existen excepciones, la taurina tiene capacidad de actuar como captador del ácido hipocloroso, oxidante que activa la L-tirosina quinasa que conduce a la formación de mediadores inflamatorios. El ácido hipocloroso es producido por leucocitos polimorfonucleares y eosinófilos y actúa como un agente bactericida, pero cuando se produce en exceso causa estrés oxidativo. Park et al. (2003) revelaron que el complejo taurina-cloramina ejerce actividad antiinflamatoria inhibiendo la formación de óxido nítrico y del factor de necrosis tumoral (TNF- α). En este contexto es importante señalar que la diabetes tipo 1 es una enfermedad inflamatoria desencadenada por la destrucción de células pancreáticas mediada por neutrófilos.

Diversos estudios han revelado que la taurina está implicada en la homeostasis de glucosa a través de dos mecanismos: a) por sus efectos sobre la secreción de insulina, y b) interfiriendo con la señalización de insulina y otros pasos postreceptor (Franconi et al., 2004). También se asigna a la taurina propiedades nefroprotectoras debidas probablemente a una disminución de la actividad de la enzima renal NADPH oxidasa. Existe evidencia de que la taurina atenúa la albuminuria y glomerulopatía, ambos presentes en la diabetes; la taurina puede suprimir la progresión de la nefropatía diabética a través de sus efectos antioxidantes (Winiarska et al., 2009).

Datos experimentales y estudios *in vitro* sugieren que la taurina como suplemento nutricional podría tener un papel relevante como protector frente al estrés oxidativo y al desarrollo de aterosclerosis (Xu et al., 2008). En humanos, la taurina forma conjugados con ácidos biliares, principalmente con el ácido cólico, dando lugar a la sal biliar taurocolato, principal sal biliar que extrae el colesterol del plasma. La suplementación dietética de taurina da lugar a una mejora del perfil lipídico. Zhang et al. (2004a) demuestran en humanos que 3 g taurina/día, durante 7 semanas, origina una disminución significativa de los niveles de triglicéridos; Mizushima et al. (1996) demostraron la reducción de los niveles plasmáticos de LDL y LDL-colesterol en humanos tratados, durante 3 semanas, con 6 g/día de taurina.

Se conoce que la hiperglicemia es el principal factor en el desarrollo de la disfunción endotelial en pacientes diabéticos. Una disfunción endotelial es precursor de la aterosclerosis. La taurina ejerce un efecto protector sobre la disfunción endotelial (Ulrich-Merzenich et al., 2007).

La taurina disminuye la presión sanguínea interfiriendo con la angiotensina II que es causa de vasoconstricción e incremento de la presión sanguínea. Otro mecanismo que también puede explicar el efecto hipotensor de la taurina es por inhibición de óxido nítrico y de la prostaglandina E₂. Fuyita et al. (1987) demuestran en un estudio controlado en pacientes hipertensivos con dieta suplementada con 6 g taurina/día una disminución significativa de la presión sanguínea sistólica y diastólica.

5.15.4 Seguridad

Es necesario remarcar que las propiedades beneficiosas sobre la salud, descritas anteriormente, para la taurina se han observado principalmente en estudios realizados en modelos animales e *in vitro*. Los estudios clínicos en humanos son limitados, por ello se requieren más investigaciones para definir la eficacia y seguridad del uso de taurina como suplemento dietético. No obstante, la taurina parece ser de especial utilidad en la terapia de complicaciones diabéticas tales como retinopatía, nefropatía y particularmente en alteraciones cardiovasculares.

Existen más de 30 ensayos clínicos en humanos publicados que implican la administración oral de taurina. De ellos, solo 11 representan estudios aleatorios (placebo-controlado) de seguridad en individuos adultos, tras la ingesta oral de al menos 1 semana de duración. Sin embargo, en estos estudios se excluyen investigaciones sobre efectos agudos, biodisponibilidad y administración parenteral. Además, el tamaño de la muestra, la dosis y duración, y las medidas del efecto potencial son muy variables entre estos estudios. También estos ensayos clínicos implican individuos sanos e individuos con un amplio rango de enfermedades o condiciones de salud. La dosis oral más alta utilizada fue 10 g/día durante 6 meses (Durelli et al., 1983). El estudio de más larga duración fue de 12 meses, a un rango de dosis de 500-1.500 mg/día, en pacientes con fibrosis quística (Colombo et al., 1996). Los niveles de taurina en el organismo parecen estar regulados en parte por el riñón (Chesney et al., 1985). Por lo tanto, el exceso de taurina en la dieta se excreta en la orina. Con la excepción de alteraciones gastrointestinales descrito en un solo estudio (Jeejeebhoy et al., 2002), no se han observado efectos adversos en ningún estudio clínico revisado. Si bien todos los ensayos clínicos fueron diseñados principalmente para evaluar los efectos beneficiosos de la taurina como suplemento dietético son estudios a cortoplazo siendo el de más duración, como se ha dicho anteriormente, de 12 meses.

El consumo estimado de taurina a partir de los alimentos en adultos en Estados Unidos es de hasta 400 mg/día (Rana y Sanders, 1986) (Laidlaw et al., 1990) (Hayes y Trautwein, 1994), lo que sugiere que las dosis usadas en los ensayos clínicos publicados (hasta 20 veces mayores que la típicamente consumida en una dieta normal) son adecuadas para evaluar la seguridad del suplemento dietético. La ausencia de efectos adversos observados en relación a la administración oral de taurina soporta la idea de seguridad de este aminoácido con confianza.

Ninguno de los ensayos clínicos en humanos revisados encuentran efectos adversos relacionados con la administración oral de taurina, Por ello, por definición, no existe base para identificar un NOAEL o LOAEL. En ausencia de estos dos valores, generalmente no puede derivarse un UL (IoM, 1998). Consecuentemente, para cada ensayo clínico se aplica el procedimiento del OSL, definido como el nivel más alto del nutriente estudiado con evidencia científica de seguridad para el cual la toxicidad no ha sido identificada a ningún nivel (OMS, 2006). El valor del OSL identificado en ensayos no requiere corrección para ingestas de dieta o síntesis endógena (es decir $UF=1,0$) y puede ser identificado como el ULS (*Safe Upper Level for Supplements*). Los resultados se describen a continuación.

Los ensayos clínicos en humanos más relevantes publicados administran dosis orales de taurina en un rango de 500 mg/día a 10 g/día (Azuma et al., 1983, 1985) (Durelli et al., 1983) (Fuyita et al., 1987) (Colombo et al., 1996) (Mizushima et al., 1996) (Jeejeebhoy et al., 2002) (Sirdah et al., 2002) (Chauncey et al., 2003) (Brons et al., 2004) (Zhang et al., 2004a, 2004b) (Spohr et al., 2005). Todos los estudios fueron

doble ciego, aleatorios y controlados, con adultos sanos y otros con pacientes con diferentes enfermedades, evaluando parámetros o medidas clínicas relevantes.

La dosis más alta de taurina ensayada fue 10 g/día (Durelli et al., 1983). En este estudio, pacientes con distrofia miotónica fueron tratados en un estudio cruzado con 100-150 mg/kg p.c./día (equivalente a 7-10 g/día en adultos de 70 kg de p.c.) la primera dosis por vía parenteral, seguido de dosis orales durante 6 meses. En este estudio se observaron niveles de taurina duplicados así como un incremento de taurina en orina. No se describe ningún efecto adverso. Aunque este ensayo es de larga duración, dado que el tamaño de la muestra es pequeño (n=18) y por la falta de medidas clínicamente relevantes, los autores no consideraron apropiado el uso de este estudio para la identificación de un OSL.

En una serie de dos estudios clínicos realizados por Azuma et al. (1983, 1985) en 14 y en 58 pacientes con fallo cardíaco a dosis de 6 g de taurina/día durante 4 semanas, no se observaron efectos adversos; estos estudios fueron diseñados principalmente para evaluar la presión sanguínea y el ritmo cardíaco. Aunque no se observaron efectos adversos, el tamaño de la muestra y la corta duración del ensayo de nuevo no permiten usar este estudio para la identificación de un OSL (Azuma et al., 1985, 1983).

Otra serie de estudios clínicos fueron realizados con una dosis menor, 3 g taurina/día en un periodo de tiempo entre 12 días hasta 4 meses. Analizados colectivamente los estudios descritos por Colombo et al. (1996), Sirdah et al. (2002), Brons et al. (2004), Zhang et al. (2004a, 2004b) y Spohr et al. (2005) los resultados (no se observan cambios en las medidas bioquímicas sanguíneas, ni efectos adversos) se consideran adecuados para seleccionar un OSL de 3 g taurina/día (Shao y Hathcock, 2008).

Respecto a datos de toxicidad en animales, no existen ensayos de toxicidad aguda, subcrónica y crónica de taurina tras administración oral, por ello solamente se han analizado los ensayos clínicos publicados en humanos.

En conclusión, se ha identificado un OSL de 3 g taurina/día a partir de datos sobre individuos que consumen una gran variedad de dietas, aparte de la síntesis endógena propia de taurina. La fuente adicional de taurina suministrada en la dieta no necesita ser sustraída del OSL para identificar un ULS. Por lo tanto, un ULS basado en datos de toxicidad a partir de ensayos clínicos en humanos es también 3 g taurina/día, con un UF de 1,0 (Shao y Hathcock, 2008).

Resumen de los resultados de análisis del riesgo del aminoácido taurina

- NOAEL o LOAEL en el hombre: >10 g/día.
- OSL: 3 g/día.
- Ingesta estimada a través de fuentes dietéticas: 40-400 mg/día.
- ULS: 3 g/día.

5.15.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 1.000 mg de taurina, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Azuma, J., Hasegawa, H., Sawamura, A., Awata, N., Ogura, K., Harada, H., Yamamura, Y. y Kishimoto, S. (1983). Therapy of congestive heart failure with orally administered taurine. *Clinical Therapeutics*, 5, pp: 398-408.
- Azuma, J., Sawamura, A., Awata, N., Ohta, H., Hamaguchi, T., Harada, H., Takihara, K., Hasegawa, H., Yamagami, T. y Ishiyama, T. (1985). Therapeutic effect of taurine in congestive heart failure: a doubleblind crossover trial. *Clinical Cardiology*, 8, pp: 276-282.
- BOE (2008). Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación. BOE 131 de 30 de mayo de 2008, pp: 25.121-25.137.
- Brons, C., Spohr, C., Storgaard, H., Dyerberg, J. y Vaag, A. (2004). Effect of taurine treatment on insulin secretion and action, and on serum lipid levels in overweight men with a genetic predisposition for type II diabetes mellitus. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58, pp: 1.239-1.247.
- Chauncey, K.B., Tenner Jr, T.E., Lombardini, J.B., Jones, B.G., Brooks, M.L., Warner, R.D., Davis, R.L. y Ragain, R.M. (2003). The effect of taurine supplementation on patients with type 2 diabetes mellitus. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 526, pp: 91-96.
- Chesney, R.W., Gusowski, N. y Dabbagh, S. (1985). Renal cortex taurine content regulates renal adaptive response to altered dietary intake of sulfur amino acids. *J. Journal of Clinical Investigation*, 76, pp: 2.213-2.221.
- Colombo, C., Battezzati, P.M., Podda, M., Bettinardi, N. y Giunta, A. (1996). Ursodeoxycholic acid for liver disease associated with cystic fibrosis: a double-blind multicenter trial. The Italian group for the study of ursodeoxycholic acid in cystic fibrosis. *Hepatology*, 23, pp: 1.484-1.490.
- DG SANCO (2008). Directorate Generale for Health and Consumers. Characteristics and perspectives of the market for food supplements containing substances other than vitamins and minerals. Commission staff working document. COM (2008)824 final. SEC (2008)2977.
- Dinamarca (2011). Bekendtgørelse om tilsaetning af visse andre stoffer end vitaminer og mineraler til fodevarer. Lotvindinge A, Nr 888, 12 august 2011.
- Durelli, L., Mutani, R. y Fassio, F. (1983). The treatment of myotonia: evaluation of chronic oral taurine therapy. *Neurology*, 33, pp: 599-603.
- Franconi, F., Di Leo, M.A., Bennardini, F. y Ghirlanda, G. (2004). Is Taurine beneficial in reducing risk factors for diabetes Mellitus? *Neurochemical Research*, 29, pp: 143-150.
- Franconi, F., Loizzo, A., Ghirlanda, G. y Seghieri, G. (2006). Taurine supplementation and diabetes mellitus. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 9, pp: 32-36.
- Fuyita, T., Ando, K., Noda, H., Ito, Y. y Sato, Y. (1987). Effects of increased adrenomedullary activity and taurine in young patients with borderline hypertension. *Circulation*, 75, pp: 525-532.
- Hansen, S.H. (2001). The role of taurine in diabetes and the development of diabetic Complications. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 17, pp: 330-346.
- Hayes, K.C. y Trautwein, E.A. (1994). Taurine. *Modern Nutrition in Health and Disease*. Lea and Febiger, pp: 477-485.
- Huxtable, R.J. (1992). Physiological actions of taurine. *Physiological Reviews*, 72, pp: 101-163.
- Huxtable, R.J. (1996). Taurine. Past, present, and future. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 403, pp: 641-650.
- IoM (1998). Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes: A Risk Assessment Model for Establishing Upper Intake Levels for Nutrients. Institute of Medicine. National Academy Press, Washington, DC.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Jeejeebhoy, F., Keith, M., Freeman, M., Barr, A., McCall, M., Kurian, R., Mazer, D. y Errett, L. (2002). Nutritional supplementation with MyoVive repletes essential cardiac myocyte nutrients and reduces left ventricular size in patients with left ventricular dysfunction. *American Heart Journal*, 143, pp: 1.092-1.100.

- Laidlaw, S.A., Grosvenor, M. y Kopple, J.D. (1990). The taurine content of common foodstuffs. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 14, pp: 183-188.
- Militante, J. y Lombardini, J.B. (2004). Age-related retinal degeneration in animal models of aging: possible involvement of taurine deficiency and oxidative stress. *Neurochemical Research*, 29, pp: 151-160.
- Militante, J.D. y Lombardini, J.B. (2002). Treatment of hypertension with oral taurine: experimental and clinical studies. *Amino Acids*, 23, pp: 381-393.
- Mizushima, S., Nara, Y., Sawamura, M. y Yamori, Y. (1996). Effects of oral taurine supplementation on lipids and sympathetic nerve tone. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 403, pp: 615-622.
- Nonaka, H., Tsujino, T., Watari, Y., Enoto, N. y Yokoyama, M. (2001). Taurine prevents the decrease in expression and secretion of extracellular superoxide dismutase induced by homocystein amelioration of homocystein-induced endoplasmic reticulum stress by taurine. *Circulation*, 104, pp: 1.165-1.170.
- OMS (2006). Organización Mundial de la Salud. A Model for Establishing Upper Levels of Intake for Nutrients and Related Substances. Technical Workshop on Nutrient Risk Assessment, Geneva, Switzerland. Disponible en: http://www.who.int/is/highlights/full_report.pdf [acceso: 27-11-12].
- Park, E., Alberti, J., Quinn, M.R. y Schuller-Levis, G. (2003). Taurine chloramines inhibits production of superoxide anion, IL-6 and IL-8 in activated human polymorphonuclear leukocytes. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 442, pp: 177-182.
- Rana, S.K. y Sanders, T.A. (1986). Taurine concentrations in the diet, plasma, urine and breast milk of vegans compared with omnivores. *British Journal of Nutrition*, 56, pp: 17-27.
- Schaffer, S.W., Azuma, J. y Mozaffari, M. (2009). Role of antioxidant activity of taurine in diabetes. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 87, pp: 91-99.
- Seidl, R., Peyrl, A., Nicham, R. y Hauser, E. (2000). A taurine and caffeine containing drink stimulates cognitive performance and well-being. *Amino Acids*, 19, pp: 635-642.
- Shao, A. y Hathcock, J.N. (2008). Risk assessment for the amino acids taurine, L-glutamine and L-arginine. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 50, pp: 376-399.
- Sirdah, M.M., El-Agouza, I.M. y Abu Shahla, A.N. (2002). Possible ameliorative effect of taurine in the treatment of iron-deficiency anaemia in female university students of Gaza, Palestine. *European Journal of Haematology*, 69, pp: 236-242.
- Sole, M.J. y Jeejeebhoy, K.N. (2000). Conditioned nutritional requirements and the pathogenesis and treatment of myocardial failure. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 3, pp: 417-424.
- Spohr, C., Brons, C., Winther, K., Dyerberg, J. y Vaag, A. (2005). No effect of taurine on platelet aggregation in men with a predisposition to type 2 diabetes mellitus. *Platelets*, 16, pp: 301-305.
- Trip, J., Drost, G., van Engelen, B.G. y Faber, C.G. (2006). Drug treatment for myotonia. *Cochrane database of systematic reviews*, CD004762.
- UE (2006). Directiva 2006/141/CE de la Comisión, de 22 de diciembre de 2006, relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y por la que se modifica la Directiva 1999/21/CE. DO L 401 de 30 de diciembre de 2006, pp: 1-33.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269 de 14 de octubre de 2009, pp: 9-19.
- Ulrich-Merzenich, G., Zeitler, H., Vetter, H. y Bhonde, R.R. (2007). Protective effects of taurine on endotelial cells impaired by high glucose and oxidized low density lipoproteins. *European Journal of Nutrition*, 46, pp: 431-438.
- Winiarska, K., Szymanski, K., Gorniak, P., Dudziak, M. y Bryla, J. (2009). Hypoglycaemic, antioxidative and nephroprotective effects of taurine in alloxan diabetic rabbits. *Biochimie*, 91 (2), pp: 261-270.
- Wu, H., Jin, Y., Wei, J., Jin, H., Sha, D. y Wu, J.Y. (2005). Mode of action of taurine as a neuroprotector. *Brain Research*, 1038, pp: 123-131.

- Xu, X.J., Arneja, A.S., Tappia, P.S. y Dhalla, N.S. (2008). The potential health benefits of taurine in cardiovascular disease. *Experimental & Clinical Cardiology*, 13, pp: 57-65.
- Zhang, M., Bi, L.F., Ai, Y.D., Yang, L.P., Wang, H.B., Liu, Z.Y. y Sekine, M. (2004a). Effects of taurine supplementation on VDT work induced visual stress. *Amino Acids*, 26, pp: 59-63.
- Zhang, M., Bi, L.F., Su, X.L., Da, G.L., Kuwamori, T. y Kagamimori, S. (2004b). Beneficial effects of taurine on serum lipids in overweight or obese non-diabetic subjects. *Amino Acids*, 26, pp: 267-271.

5.16 L-tirosina más L-fenilalanina

5.16.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria para la suma de L-tirosina más L-fenilalanina de 1.900 mg. Dicha propuesta se basa en la ingesta de referencia proteica recomendada por la OMS para la población adulta (OMS, 2007).

En Italia está autorizado en complementos alimenticios (propuesta legislativa) una cantidad máxima diaria de 1.330 mg para la suma de L-tirosina y L-fenilalanina (Italia, 2012).

5.16.2 Características y fuentes

La L-fenilalanina es un alfa aminoácido aromático con un anillo bencénico. Su fórmula química es $C_9H_{11}NO_2$. También se conoce como ácido 2-amino-3-fenil propanoico. Es un aminoácido no polar, hidrofóbico y con carga eléctrica neutra.

La L-tirosina, también es conocida como 4-hidroxi-fenilalanina o ácido L-2-Amino-3-(4-hidroxifenil) propanoico. Su fórmula química es $C_9H_{11}NO_3$. También es un aminoácido aromático pero con un grupo polar.

Las fuentes dietéticas de L-fenilalanina y L-tirosina son en general los alimentos proteicos (carnes, huevos, pescados, lácteos y legumbres). La L-fenilalanina se encuentra además en el edulcorante aspartamo.

EFSA ha publicado una opinión científica relativa a la verificación de declaraciones de salud relativas a la L-fenilalanina: i) mejora del estado de alerta; ii) mejora del estado de humor; iii) mejora de la memoria; iv) analgésico; v) ayuda a la espermatogénesis; y vi) mejora de los niveles circulantes de ácidos grasos libres durante el embarazo. Basándose en la información presentada, el Panel de EFSA no encuentran que sea posible establecer relación causa efecto alguna en ninguno de los casos (EFSA, 2010). Además, EFSA ha publicado una opinión científica relativa a la verificación de las declaraciones de salud relativa a que la L-tirosina contribuye a la síntesis normal de dopamina. Basándose en la información presentada, el Panel NDA de EFSA concluye que la L-tirosina si contribuye a la síntesis de dopamina (EFSA, 2011a). También, hay otra opinión científica relativa a la verificación de declaraciones de salud relativas a la L-tirosina: i) la síntesis normal de catecolaminas; ii) la mejora de la atención; y iii) la contribución a la contracción muscular. Basándose en la información presentada, el Panel NDA de EFSA solo encuentran que sea posible establecer relación causa efecto en la primera de las declaraciones (EFSA, 2011b).

5.16.3 Nutrición y metabolismo

La L-fenilalanina es un aminoácido esencial que se cataboliza a L-tirosina mediante el enzima L-fenilalanina hidroxilasa y con la participación, como cofactor, de la tetrahidrobiopterina. El catabolismo de la L-tirosina da lugar a fumarato y cetoacetato, mediante reacciones de transaminación. Por eso, ambos aminoácidos se consideran glucogénicos y cetogénicos.

Por otro lado, la L-tirosina es un intermediario de la biosíntesis de la dopamina, epinefrina y norepinefrina. El primer paso de la ruta biosintética de las catecolaminas a partir de la L-tirosina lo cataliza la tirosina hidroxilasa. Además, la L-tirosina interviene en la síntesis de la melanina. Finalmente, ambos aminoácidos son proteínogénicos.

Los estudios de balance nitrogenado y de oxidación con los aminoácidos aromáticos marcados indican que los requerimientos diarios de ambos son de 25 mg/kg p.c. y para los niños oscilan entre 25 y 90 mg/

kg p.c. (OMS, 2007). En la actualidad no es posible establecer requerimientos para cada uno de estos aminoácidos por separado. No se dispone de datos de ingestas estimadas de aminoácidos aromáticos en la población adulta o infantil.

5.16.4 Seguridad

Un número considerable de estudios realizados con anterioridad a la década de los ochenta han llegado a la conclusión que incrementos en la ingesta de L-fenilalanina (dietas enriquecidas con 3-7 % L-fenilalanina) suponen un aumento en los niveles circulantes de L-tirosina. Por eso, los efectos tóxicos de la L-fenilalanina van unidos a los de la L-tirosina (Harper et al., 1970) (Benevenga y Steele, 1984).

La administración de L-fenilalanina, a dosis comprendidas entre 0,3-4 g/kg p.c./día, durante 2-4 semanas, a ratas recién destetadas induce una: i) disminución del peso corporal; ii) una disminución del peso del cerebro; iii) una desmielinización cerebral, afectando particularmente al cerebelo; y iv) una modificación en el perfil lipídico de la mielina (Prensky et al., 1974) (Shah y Johnson, 1978).

En ratas recién destetadas la suplementación con L-tirosina (3-5 %) durante 2 semanas produjo una disminución del crecimiento de hasta un 30 %, la aparición de cataratas y lesiones en la piel (Boctor y Harper, 1968) (Goldsmith, 1975). Por otro lado, trabajos llevados a cabo de administración aguda de L-tirosina en roedores (hasta 5 g/kg p.c.), de administración crónica (28 días, dosis de hasta 50 mg/kg p.c./día), en roedores, perros y cerdos, no han visto signo alguno de toxicidad (Baldrick et al., 2002). Hay que señalar que en estos estudios la L-tirosina se administró por vía intramuscular o subcutánea. Por otro lado, los estudios de genotoxicidad (hasta 1 g/pocillo en cultivo de *Salmonella typhimurium*) han concluido la ausencia de efectos genotóxicos de la L-tirosina (Baldrick et al., 2002).

Los trabajos en humanos han demostrado que la L-tirosina es segura hasta dosis de 150 mg/kg p.c./día (Van Spronsen et al., 2001), produciendo solo en algunas personas efectos secundarios menores (nauseas, diarreas, dolores de cabeza o insomnio). Por otro lado, se ha visto que en pacientes con hipertiroidismo, la ingesta de L-tirosina puede incrementar los niveles plasmáticos de la hormona tiroidea (Van Spronsen et al., 2001). No existen estudios sobre la ingesta de L-tirosina en mujeres embarazadas.

5.16.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 1.900 mg para la suma de L-tirosina más L-fenilalanina, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Baldrick, P., Richardson, D. y Wheeler, A.W. (2002). Review of L-tyrosine confirms its safe human use as an adjuvant. *Journal of Applied Toxicology*, 22, pp: 333-344.
- Benevenga, N.J. y Steele, R.D. (1984). Adverse effects of excessive consumption of amino acids. *Annual Review of Nutrition*, 4, pp: 157-181.
- Boctor, A.M. y Harper, A.E. (1968). Tyrosine toxicity in the rat. Effect of high intake of p-hydroxyphenylpyruvic and of force-feeding high tyrosine diet. *Journal of Nutrition*, 95, pp: 535-540.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific

- Opinion on the substantiation of health claims related to L phenylalanine and increased alertness (ID 708, 1629), enhancement of mood (ID 657), pain relief (ID 657) and improvement of memory (ID 658) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 8, pp: 1.762.
- EFSA (2011a). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to L tyrosine and contribution to normal synthesis of dopamine pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9, pp: 2.297.
- EFSA (2011b). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to L-tyrosine and contribution to normal synthesis of catecholamines (ID 1928), increased attention (ID 440, 1672, 1930), and contribution to normal muscle function (ID 1929) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9, pp: 2.270-2.286.
- Goldsmith, L.A. (1978). Tyrosine induced skin disease. *British Journal of Dermatology*, 98, pp: 119-121.
- Harper, A.E., Benevenga, N.J. y Wohlhueter, R.M. (1970) Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. *Physiological Reviews*, 50, pp: 428-557.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- Prensky, A.L., Fishman, M.A. y Daftari, B. (1974). Recovery of rat brain from a brief hyperphenylalaninemic insult early in development. *Brain Research*, 73, pp: 51-58.
- Shah, S.N. y Jonson, R.C. (1978). Effects of post-weaning hyperphenylalanemia on brain development in rats: myelination, lipids and fatty acids composition of myelin. *Experimental Neurology*, 61, pp: 370-379.
- Van Spronsen, S.J., Van Rijn, M. y Bekhof, J. (2001). Phenylketonuria: tyrosine supplementation in phenylalanine restricted diets. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, pp: 153-157.

5.17 L-treonina

5.17.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión de la L-treonina en el Real Decreto 1487/2009 con una cantidad máxima diaria de 1.150 mg. Dicha propuesta se basa en la ingesta de referencia proteica recomendada por la OMS para la población adulta (OMS, 2007).

La propuesta se basa en que el Reglamento (CE) N° 953/2009 (UE, 2009) incluye al L-treonina entre las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial.

En Bélgica la L-treonina está autorizada en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Bélgica, 1992).

También en Italia está autorizado en complementos alimenticios (propuesta legislativa) con una cantidad máxima diaria de 630 mg de L-treonina (Italia, 2012).

5.17.2 Características y fuentes

L-treonina (Thr) (ácido alfa-amino-beta-hidroxibutanoico) es un aminoácido polar con una cadena lateral que contiene un grupo hidroxilo. El requerimiento nutricional de L-treonina es especialmente importante, puesto que se ha insinuado que, tras los aminoácidos azufrados, es el segundo aminoácido limitante de los requerimientos de mantenimiento, probablemente porque se considera el componente individual más importante en la pérdida ileal en el intestino grueso. Se encuentra presente en pequeñas cantidades en las proteínas de cereales (OMS, 2007).

La L-treonina es un aditivo alimentario cuya adición directa a los alimentos está autorizada por la FDA de los Estados Unidos, siempre que 1) la cantidad añadida no exceda la que razonablemente se requiere para conseguir los efectos físicos, nutritivos u otros efectos tecnológicos en los alimentos, y 2) sea de grado alimentario y sea tratada como ingrediente alimentario.

5.17.3 Nutrición y metabolismo

La L-treonina es un aminoácido esencial que el organismo utiliza en la síntesis proteica tisular en la producción de mucina por los enterocitos del tracto intestinal. En los mamíferos tiene una importante contribución en la síntesis de colágeno y elastina y en la formación del esmalte dental. Es un precursor de la glicina.

La L-treonina, al igual que la L-lisina, no participa en las reacciones de transaminación. Glicina, serina y L-treonina están metabólicamente interrelacionadas, de forma que el metabolismo de la L-treonina está estrechamente relacionado con el de glicina y serina.

En los mamíferos la L-treonina tiene dos vías catabólicas, puede catabolizarse en el citosol por acción de la L-treonina dehidratasa (TDH) a NH_4^+ y 2-ceto-butirato que se transforma rápida e irreversiblemente a CO_2 o puede ser metabolizada en la mitocondria por la L-treonina dehidrogenasa [TDG] para formar 2-amino-3-cetobutirato que se descompone por acción de la 2-amino-cetobutirato-CoA ligasa para dar glicina y acetyl-CoA (Dale, 1978) (Bird y Nunn, 1983).

Las ingestas dietéticas recomendadas de L-treonina para adultos (mayores de 19 años) (IoM, 2005) son: AR: 16 mg/kg p.c./día; RDA: 20 mg/kg p.c./día (IoM, 2005).

Los requerimientos (OMS, 2007) para adultos son: 15 mg/kg p.c./día.

Basándose en la distribución de los datos de NHANES III (1988-1994), la ingesta media diaria de L-treonina procedente de los alimentos y complementos alimenticios para todos los grupos de edad, en todas las etapas de la vida, en hombres y mujeres es de 3,0 g/día. Las ingestas más elevadas corresponden al percentil 99 de los hombres (de 51 a 70 años) y su valor es de 7,1 g/día (IoM, 2005).

5.17.4 Seguridad

Efectos adversos en animales

En ratas alimentadas con una dieta que contiene un 19 % de caseína y un 5 % de L-treonina adicionada se observa una disminución en el aumento de peso, en relación a los controles que reciben la misma dieta sin la adición de L-treonina, pero no se vieron cambios en el peso del hígado ni en el DNA hepático, RNA o contenido proteico (Muramatsu et al., 1971). Los datos disponibles indican que la L-treonina en exceso se transforma en hidratos de carbono, lípidos en hígado y CO₂ (Yamashita y Ashida, 1971).

En cerdos destetados, la adición de 0,5; 1; 2 ó 4 % de L-treonina a una dieta que contiene un 20 % de proteína bruta no afecta, si se compara con los controles, al aumento de peso, la ingesta de alimentos ni la ratio aumento de peso: pienso (Edmonds y Baker, 1987) (Edmonds et al., 1987).

Efectos adversos en humanos

No se ha encontrado información relativa a seres humanos aparentemente sanos que ingieren complementos alimenticios con L-treonina. Si bien la L-treonina se ha utilizado en clínica para aumentar las concentraciones de glicina en el fluido cerebro espinal de pacientes con espasticidad, sin observar efectos clínicos adversos cuando se administran dosis de 4,5 a 6,0 g/día durante 14 días (Growdon et al., 1991).

En personas a las que se administraba hasta 22,5 g de L-treonina intravenosa se mencionaba dolor de cabeza y de espalda (Floyd et al., 1966).

En niños prematuros al aumentar la ingesta de fórmula también lo hacen las concentraciones séricas de L-treonina, en especial en aquellos que toman fórmulas a base de suero lácteo (que es especialmente rico en L-treonina), sin que se observen efectos adversos (Jarvenpaa et al., 1982).

También se ha estudiado la L-treonina en niños de bajo peso al nacimiento, las concentraciones séricas del aminoácido estaban directamente relacionadas con los contenidos de L-treonina de las fórmulas (Rigo y Senterre, 1980). Los autores indican que en niños prematuros las ingestas de L-treonina no deberían superar los 140 mg/kg p.c./día.

Evaluación de la dosis-respuesta

No se dispone de datos relativos a los efectos adversos de la ingesta de L-treonina procedente de complementos alimenticios para una evaluación de la dosis respuesta y la extrapolación de un UL en seres humanos aparentemente sanos.

5.17.5 Conclusión

En función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta que la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 1.150 mg es coincidente con el requerimiento de L-treonina

establecido por la OMS, el Comité Científico concluye que la cantidad propuesta es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Bélgica (1992). Arrêté royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriments et de denrées alimentaires auxquelles des nutriments ont été ajoutés (Mon. 15. IV.1992).
- Bird, M.I. y Nunn, P.B. (1983). "Metabolic homeostasis of L-threonine in the normally-fed rat. Importance of liver threonine dehydrogenase activity." *Biochemical Journal*, 214 (3), pp: 687-694.
- Dale, R.A. (1978). "Catabolism of threonine in mammals by coupling of L-threonine 3-dehydrogenase with 2-amino-3-oxobutyrate-CoA ligase." *Biochimica et Biophysica Acta Biochim Biophys Acta*, 544 (3), pp: 496-503.
- Edmonds, M.S. y Baker, D.H. (1987). Amino acid excesses for young pigs: Effects of excess methionine, tryptophan, threonine or leucine. *Journal of Animal Science*, 64, pp: 1.664-1.671.
- Edmonds, M.S., Gonyou, H.W. y Baker, D.H. (1987). Effect of excess levels of methionine, tryptophan, arginine, lysine or threonine on growth and dietary choice in the pig. *Journal of Animal Science*, 65, pp: 179-185.
- Floyd, J.C.Jr., Fajans, S.S., Conn, J.W.A., Knopf, R.F. y Rull, J. (1966). Stimulation of insulin secretion by amino acids. *Journal of Clinical Investigation*, 45, pp: 1.487-1.502.
- Growdon, J.H., Nader, T.M., Schoenfeld, J. y Wurtman, R.J. (1991). L-Threonine in the treatment of spasticity. *Clinical Neuropharmacology*, 14, pp: 403-412.
- IoM (2005). Institute of Medicine. DRI Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. The National Academics Press. Washington DC.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Jarvenpaa, A.L., Rassin, D.K., Rähä, N.C.R. y Gaull, G.E. (1982). Milk protein quantity and quality in the term infant. II. Effects on acidic and neutral amino acids. *Pediatrics*, 70, pp: 221-230.
- Muramatsu, K., Odagiri, H., Morishita, S. y Takeuchi, H. (1971). Effect of excess levels of individual amino acids on growth of rats fed casein diets. *Journal of Nutrition*, 101 (9), pp: 1.117-1.125.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- Rigo, J. y Senterre, H. (1980). Optimal threonine intake for preterm infants fed on oral or parenteral nutrition. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 4, pp: 15-17.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269, pp: 9-19.
- Yamashita, K. y Ashida, K. (1971). Effect of excessive levels of lysine and threonine on the metabolism of these amino acids in rats. *Journal of Nutrition*, 101, pp: 1.607-1.614.

5.18 L-triptófano (obtenido por hidrólisis proteica)

5.18.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de L-triptófano obtenido por hidrólisis proteica de 300 mg, con la advertencia de que está contraindicado en personas que estén siendo tratadas con antidepresivos. Dicha propuesta se basa en la ingesta de referencia proteica recomendada por la OMS para la población adulta (OMS, 2007).

En Francia, siguiendo las conclusiones del Comité de Toxicidad de la *Food Standards Agency* (FSA) del Reino Unido, se ha evaluado favorablemente en los complementos alimenticios una cantidad de L-triptófano de 220 mg/día, desaconsejando su consumo a todas aquellas personas que se encuentren en tratamiento con antidepresivos (AFSSA, 2008).

En Italia está autorizado en complementos alimenticios (propuesta legislativa) con una cantidad máxima diaria de 350 mg (Italia, 2012).

5.18.2 Características y fuentes

El triptófano también se conoce como 2-amino-3-(1H-indol-3-yl) ácido propiónico. Su fórmula química es $C_{11}H_{12}N_2O_2$. Se trata de un aminoácido que contiene un grupo funcional indol.

El triptófano se suele encontrar en los alimentos de origen proteico. Entre ellos destacan los lácteos, las carnes, los huevos, los pescados, aves, la soja y algunos frutos secos y semillas.

EFSA ha publicado una opinión científica relativa a la verificación de declaraciones de salud relativas al L-triptófano: i) mejora la conciliación del sueño; ii) mejora el estado de humor; iii) incrementa la función cognitiva; y iv) contribuye al mantenimiento de un peso corporal adecuado. Basándose en la información presentada, el Panel NDA de EFSA no encuentran que sea posible establecer relación causa-efecto alguna en ninguno de los casos (EFSA, 2011).

5.18.3 Nutrición y metabolismo

El triptófano es un aminoácido esencial que interviene en la síntesis de proteínas y es el precursor bioquímico de la serotonina, la melatonina, la niacina y las coenzimas NAD y NADP.

El triptófano se metaboliza a través de la vía de la kinurenina-niacina. Ese proceso catabólico se inicia en el hígado.

En un adulto sano que siga las recomendaciones dietéticas de ingesta de proteínas, el aporte de L-triptófano oscila entre 600 y 1.200 mg diarios (Brown, 1994). Actualmente, las recomendaciones diarias de L-triptófano son de 4 mg/kg p.c. (OMS, 2007). Estas recomendaciones se basan en los trabajos de oxidación del L-triptófano en personas alimentadas (Lazaris-Brunner et al., 1998) y en el análisis de la curva de respuesta plasmática al aminoácido (Young et al., 1971).

5.18.4 Seguridad

Los trabajos sobre la mutagenicidad del L-triptófano se han realizado en cinco cepas diferentes de *Salmonella typhimurium* y en líneas celulares de ratón, hámster y humanos. En ninguno de ellos se vio un efecto mutagénico. Es más, los compuestos derivados de la metabolización del L-triptófano tampoco produjeron efecto alguno. Esto nos lleva a descartar el posible efecto mutagénico de los metabolitos del L-triptófano formados por las bacterias intestinales (Herbst, 1994).

Los estudios de toxicidad aguda establecen, en ratones, ratas y conejo una DL_{50} entre 2-16 g/kg p.c., cuando se administra L-triptófano por vía oral, intraperitoneal o intravenosa (Herbst, 1994). Estos estudios nos permiten concluir que la toxicidad aguda del L-triptófano es baja.

En cuanto a los estudios de toxicidad subcrónica, la administración a ratas por vía intraperitoneal, de L-triptófano a dosis de 0,5; 1,0 y 2,0 g/kg p.c./día, durante 30 días, causó a las dos dosis más altas daño hepático, pérdida de apetito, pérdida de peso, disminución de la actividad motora y al final muerte de los animales (Herbst, 1994).

Los estudios de toxicidad crónica son contradictorios en el sentido de que hay algunos trabajos que señalan la capacidad del L-triptófano para favorecer la aparición de tumores hepáticos (Herbst, 1994). No obstante, en esos trabajos se usan dosis extremadamente altas de L-triptófano y agentes inductores de la tumorigénesis. Por otro lado, existen numerosos estudios que señalan que el L-triptófano a altas dosis por vía oral y en largos períodos de tiempo no tiene ningún potencial carcinogénico (Herbst, 1994). Entre esos estudios destaca un ensayo llevado a cabo por el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos (NCI, 1978), en ratones (n=35) y ratas (n=35). En ese estudio se les administró a los animales L-triptófano al 2,5 y al 5 % en el agua de bebida (dosis equivalente a 2,5-5 mg/kg p.c.), cinco veces a la semana y durante 78 semanas. En ningún caso se observó efecto tumorigénico o potenciador de la inducción de tumores.

Las investigaciones llevadas en ratas, a las que se les dio L-triptófano al 1 % en el agua de bebida, durante siete generaciones, no mostraron ningún efecto sobre la reproducción y el desarrollo embrionario (Herbst, 1994). Sin embargo, en el hámster dorado, una especie de roedor que carece de la enzima hepática apo-triptófano oxidasa, dosis iguales de L-triptófano en el agua si produjo crías de menos peso y tamaño y con una mayor mortalidad perinatal (Pevet et al., 1981).

En lo que se refiere a los humanos, hay que señalar que prácticamente no hay estudios de toxicidad propiamente dichos, con lo cual sólo se pueden extraer conclusiones a partir de ensayos clínicos en los que se usa el L-triptófano. En estos ensayos clínicos se han empleado dosis de hasta 10-15 g/día, durante largos períodos de tiempo. No obstante, los autores señalan que dosis de 1-5 g/día (hasta 70 mg/kg p.c./día), durante largos períodos de tiempo, son muy bien toleradas y no conllevan ningún riesgo (Kimura et al., 2012). Finalmente, se ha comprobado que una de las enzimas responsables de metabolismo hepático del L-triptófano (triptófano-2,3-dioxigenasa) no funciona correctamente en mujeres embarazadas, neonatos, lactantes y pacientes con insuficiencia adrenal (Herbst, 1994).

5.18.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 300 mg de L-triptófano, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

No debe ser consumido por mujeres embarazadas, ni por aquellas personas que estén siendo tratadas con antidepresivos o que padezcan insuficiencia renal.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Maisons-Alfort, le 8 septembre 2008. Disponible en: <http://www.anses.fr/Documents/NUT2007sa0231q.pdf> [acceso: 27-11-12].
- Brown, R.R. (1994). Tryptophan metabolism. A review. En libro: *L-tryptophan current prospects in medicine and drug safety*. Kochen, W. and Steinhart, H. eds. Walter de Gruyter, pp: 17-30.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to L-tryptophan and maintenance of normal sleep (ID 596, 1671), enhancement of mood (ID 596), contribution to normal cognitive function (ID 596), and contribution to the maintenance or achievement of a normal body weight (ID 604) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9, pp: 2.089.
- Herbst, M. (1994). Tryptophan toxicology. A review. En libro: *L-tryptophan current prospects in medicine and drug safety*. Kochen, W. and Steinhart, H. eds. Walter de Gruyter, pp: 200-214.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Kimura, T., Bier, D.M. y Taylor, C.L. (2012). Summary of Workshop Discussions on Establishing Upper Limits for Amino Acids with Specific Attention to Available Data for the Essential Amino Acids Leucine and Tryptophan. *American Society for Nutrition*, 142, pp: 2.245S-2.248S.
- Lazaris-Brunner, G., Rafii, M., Ball, R.O. y Pencharz, P.B. (1998). Tryptophan requirement in young adult women as determined by indicator amino acid oxidation with L-[13C]phenylalanine. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, pp: 303-310.
- NCI (1978). National Cancer Institute. Bioassay of l-tryptophan for possible carcinogenicity. *Technical Report Series*, No. 71.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- Pévet, P., Haldar-Misra, C. y Ocal, T. (1981). Effect of 5-methoxytryptophan and 5-methoxytryptamine on the reproductive system of the male golden hamster. *Journal of Neural Transmission*, 51, pp: 303-311.
- Young, V.R., Hussein, M.A., Murray, E. y Scrimshaw, N.S. (1971). Plasma tryptophan response curve and its relation to tryptophan requirement in young men. *Journal of Nutrition*, 101, pp: 45-60.

5.19 L-valina

5.19.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de 1.950 mg de L-valina. Dicha propuesta se basa en la ingesta de referencia proteica recomendada por la OMS para la población adulta (OMS, 2007).

En Italia está autorizado en complementos alimenticios (propuesta legislativa) con una cantidad máxima diaria de 910 mg de L-valina (Italia, 2012) y en Bélgica la L-valina está autorizada en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Bélgica, 1992).

5.19.2 Características y fuentes

La L-valina es un alfa-aminoácido que contiene un resto alifático ramificado. Es por tanto un aminoácido de cadena ramificada. Se trata de un aminoácido proteínogénico. Su fórmula química es $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$. Se encuentra clasificado dentro de los aminoácidos no polares y es hidrofóbico.

Sus fuentes alimentarias más importantes son el queso, pescados, aves, cacahuets, semillas de sésamo y lentejas.

5.19.3 Nutrición y metabolismo

Al ser un aminoácido esencial no puede ser sintetizado por el organismo. Su catabolización tiene lugar preferentemente en el músculo y las dos primeras etapas de su degradación son las mismas que la de los otros aminoácidos de cadena ramificada. En primer lugar hay una transaminación y posteriormente una descarboxilación oxidativa de los cetoácidos originados. La degradación de su acil-CoA da lugar a succinil-CoA.

Se trata de un aminoácido que interviene en la síntesis de proteínas y en la síntesis de la glucosa. También se ha visto que puede participar en la unión y el reconocimiento de ligandos hidrofóbicos como los lípidos (Betts y Russell, 2003).

De acuerdo con el informe técnico conjunto de la FAO/OMS/UNU los requerimientos de L-valina en los adultos son 26 mg/kg p.c./día. Para los niños lactantes 49 mg/kg p.c./día y para niños y adolescentes los valores son de 29 mg/kg p.c./día (OMS, 2007). No existen datos sobre la ingesta habitual de L-valina en la población occidental.

5.19.4 Seguridad

Hay muy pocos estudios sobre la toxicidad de la L-valina. De hecho, apenas existen trabajos sobre los efectos agudos de la ingestión de altas dosis de L-valina. En la mayoría de los trabajos, la L-valina se administra conjuntamente con otros aminoácidos de cadena ramificada (L-leucina e L-isoleucina). Debido a que la administración conjunta de estos aminoácidos tiene efectos antagónicos, es muy difícil poder extrapolar los resultados de esas investigaciones para el caso de la L-valina. En un estudio llevado a cabo en ratas, se administró L-valina en el agua de bebida a concentraciones 1,25-5 % durante 13 semanas. En este trabajo no se encontró ningún efecto perjudicial para la salud. Los autores señalan que el NOAEL para la L-valina es de 2-3 g/kg p.c./día (Tsubuku et al., 2004).

En el caso de humanos no hay estudios de la administración de la L-valina por separado y no está claro si el estudio de Tsubuku et al. (2004), que se llevó a cabo en ratas en crecimiento es extrapolable para

humanos adultos. Dado que se ha visto que la ingesta excesiva de aminoácidos de cadena ramificada podría reducir los niveles cerebrales de L-triptófano, L-fenilalanina, L-tirosina, noradrenalina, dopamina y serotonina (Baker, 2005), el exceso de L-valina podría tener algún efecto psicológico y sobre el comportamiento. No obstante, es necesario el establecimiento de estudios específicos en humanos.

5.19.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 1.950 mg de L-valina, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Baker, D.H. (2005) Tolerance for branched amino acids in experimental animals and humans. *Journal of Nutrition*, 135, pp: 1.585S-1.590S.
- Bélgica (1992). Arrêté royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriments et de denrées alimentaires auxquelles des nutriments ont été ajoutés (Mon. 15. IV.1992).
- Betts, M.J. y Russell, R.B. (2003) Amino acid properties and consequences of substitution. En libro: *Bioinformatics for geneticists*. Barnes, M.R. y Gray, I.C. eds. Wiley, pp: 289-314.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Technical Report Series 935. Report Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf [acceso: 25-04-13].
- Tsubuku, S., Hatayama, K., Katsumata, T., Nishimura, N., Mawatari, K., Smriga, M. y Kimura, T. (2004). Thirteen-week oral toxicity study of branched amino acids in rats. *International Journal of Toxicology*, 23, pp: 119-126.

6. Dipéptidos y péptidos

6.1 Glutación

6.1.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria para glutación de 50 mg. Dicha propuesta se basa en la evaluación favorable de esta sustancia en Francia (AFSSA, 2008) y en la autorización en Italia en complementos alimenticios (propuesta legislativa) de una cantidad máxima diaria, en ambos casos, de 50 mg (Italia, 2012).

6.1.2 Características y fuentes

El glutación es un tripéptido (γ -glutamyl-cisteinil-glicina) presente de forma ubicua en todos los tejidos del ser humano y demás especies animales.

El glutación se encuentra de forma natural en numerosos alimentos de origen animal y vegetal en contenidos variables, desde 10 a 100 $\mu\text{g/g}$ en frutas y verduras hasta 500 $\mu\text{g/g}$ en productos cárnicos. Además, el glutación, en su forma purificada, se comercializa en algunos países como complemento alimenticio, normalmente en forma de cápsula, polvo o comprimido, en dosis que oscilan entre los 50 y los 600 mg diarios (PDRHealth, 2006).

A pesar de la presencia de glutación en numerosos alimentos, no existen datos fiables sobre su consumo habitual. Las estimaciones sobre su ingesta dietética pueden variar considerablemente debido a diferencias en el contenido de glutación entre los alimentos y a la variabilidad en la frecuencia de su consumo. Wierzbicka et al. (1989) indicaron que la ingesta alimentaria de glutación estimada en Estados Unidos oscilaba entre 2,9 y 131 mg/día, mientras que Flagg et al. (1994) estimaron ingestas diarias para la misma población comprendidas entre 13 y 110 mg/día. Tampoco se dispone de datos fiables de ingesta de glutación en Europa.

6.1.3 Nutrición y metabolismo

El glutación se sintetiza a partir de sus aminoácidos precursores, glutamato, L-cisteína y glicina, en dos etapas. Aunque todos los tejidos tienen las enzimas necesarias para esta síntesis, el hígado es el principal órgano en el que se produce. En las células y tejidos sanos, más del 90 % del glutación total está en la forma reducida (GSH) y el resto en forma de disulfuro (GSSG). Un aumento de la proporción GSSG/GSH se considera una señal de estrés oxidativo.

En el organismo el glutación se encuentra principalmente en su forma reducida (GSH) y desempeña una importante función antioxidante y de protección celular. El GSH se oxida de forma no enzimática a GSSG (forma oxidada) y puede reaccionar con sustancias electrófilas, incluidas las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y los radicales libres. En condiciones normales, los niveles celulares de GSH se mantienen constantes por la regulación de la enzima GSH reductasa. Sin embargo, en condiciones de estrés oxidativo se puede acumular GSSG, que se secreta hacia el exterior de la célula en donde se degrada, lo que provoca pérdida de GSH intracelular. Se ha indicado que el aporte exógeno de GSH, por vía oral, puede ser útil para aumentar las concentraciones plasmáticas y tisulares de este compuesto (Favilli et al., 1997).

En los seres humanos, una concentración reducida de glutación y/o una relación de GSH/GSSG desproporcionada se ha relacionado con enfermedades como el cáncer, la hepatitis, la diabetes tipo 2, el

Parkinson y la fibrosis quística. Aunque de momento no existen evidencias científicas claras de que los complementos de glutatión puedan contribuir a la prevención de estas enfermedades, algunos estudios observacionales sugieren que una mayor ingesta dietética de glutatión se asocia con un menor riesgo de cáncer. El efecto beneficioso del glutatión en la protección frente a estas enfermedades se basaría en su capacidad antioxidante.

El glutatión presente en los alimentos se encuentra generalmente en su forma reducida (GSH), que es la forma en la que puede absorberse en el intestino delgado (Hagen y Jones, 1989), aunque también se puede encontrar en su forma oxidada (GSSG) con una biodisponibilidad muy baja a nivel intestinal (Wierzbicka et al., 1989) (Hagen et al., 1990a) (Jones et al., 1992). No obstante, el intestino delgado parece poseer un mecanismo reductor capaz de reducir el GSSG a GSH (Hagen et al., 1990a), aumentando de esta forma potencialmente la absorción del GSSG de origen alimentario.

La cuestión de la absorción intestinal del glutatión es, no obstante, controvertida. Los estudios que implican la administración oral de GSH a animales de laboratorio indican que éste se absorbe en el tracto gastrointestinal de forma intacta, observándose un incremento en los contenidos plasmáticos y tisulares (Hagen et al., 1990b). Concretamente, se ha observado que la incorporación de GSH a la dieta de las ratas incrementa sus niveles plasmáticos (la ingestión de 9 mg dobla la concentración plasmática) y tisulares (yeyuno, pulmón, corazón, hígado y cerebro). En ratas, la absorción de GSH se realiza, fundamentalmente, en el yeyuno superior mediante un sistema de captación dependiente de sodio (Hunjan y Evered, 1985) (Hagen et al., 1990a). El GSH circulante se metaboliza y elimina principalmente por vía renal (Hahn et al., 1978).

En los seres humanos la absorción del glutatión de la dieta no está definitivamente demostrada, siendo escasos los estudios realizados al respecto y con resultados contradictorios. Algunos trabajos indican que la absorción del glutatión es anecdótica y que sus niveles plasmáticos y tisulares son regulados por el hígado y los glóbulos rojos. Así, Witschi et al. (1992) no observaron variaciones en el contenido plasmático de glutatión tras la administración de una dosis oral única de 3 g a voluntarios sanos. Contrariamente, Hagen y Jones (1989) señalaron un aumento de los contenidos plasmáticos de GSH en cuatro de los cinco voluntarios a los que se les administraron por vía oral 15 mg de GSH/kg p.c. En este caso, la concentración plasmática de GSH aumentó un 300 % respecto al nivel basal una hora después de su administración, y a las 3 horas disminuyó a aproximadamente el 200 % del valor basal. Igualmente indicaron que la administración a seres humanos de los aminoácidos constituyentes del GSH no produce el mismo aumento en los niveles plasmáticos de GSH, lo que demostraría que este péptido se absorbe de forma intacta.

6.1.4 Seguridad

La evaluación de la seguridad del glutatión se fundamenta en estudios toxicológicos y clínicos, cuyos resultados no indican efectos adversos relacionados con su consumo, pero también en su amplia historia de consumo seguro y en el hecho de su presencia endógena en los sistemas biológicos y su importante papel en la detoxificación celular.

Los estudios de toxicidad del glutatión, principalmente aguda y crónica realizados en animales (Nozaki et al., 1972) (Suzuki et al., 1972) (Brown et al., 1996) (Sugimura y Yamamoto, 1998), así como los estudios clínicos en seres humanos (KOHJIN, 2008) concluyen la seguridad de esta sustancia. En el estudio

de toxicidad crónica del GSH en perros realizado por Suzuki et al. (1972) se estableció un NOAEL en 300 mg/kg p.c./día.

Los estudios clínicos sobre la eficacia de los tratamientos con glutatión no describen efectos adversos atribuibles al tratamiento, lo que apoya la seguridad de este péptido (Murao et al., 1974) (Dalhoff, 1992) (Allen y Bradley, 2011).

Desde 2008 en los Estados Unidos el glutatión se considera una sustancia GRAS (*Generally Recognized As Safe*) para su uso como ingrediente alimentario (KOHJIN, 2008).

Dado el carácter ubicuo de las enzimas implicadas tanto en la síntesis como en el metabolismo y transporte del glutatión, parece importante que también se considere la seguridad de los aminoácidos constituyentes de este péptido para evaluar la seguridad del glutatión por vía oral. Para el glutamato y la L-cisteína véase el apartado correspondiente a su seguridad en este mismo informe.

Glicina

La administración intravenosa de una dosis de 3 g/kg de glicina a ratones provocó la muerte del 70 % de los animales. Sin embargo, por vía oral, después de una suplementación con glicina, a dosis de 1 y 5 g/kg, a ratones durante 3 meses sólo se observó una reducción significativa en el nivel de expresión de los canales de calcio de tipo N de la corteza parietal (Shoham et al., 2001). Este efecto refleja una adaptación funcional al aumento de la concentración de glicina circulante y no se considera que sea una evidencia de neurotoxicidad para la glicina por vía oral.

Respecto a los estudios clínicos en humanos, Gannon et al. (2002) mostraron que la administración aguda por vía oral de 1 mmol de glicina/kg p.c. (aproximadamente 4,5 g) tiene un efecto favorable sobre el control glucémico, sin provocar ningún tipo de efecto secundario. También se dispone de resultados similares procedentes de varios estudios a largo plazo en pacientes con esquizofrenia (Rosse et al., 1989) (Javitt et al., 1994) (Heresco-Levy et al., 1999) (Potkin et al., 1999) (Javitt et al., 2001) (Heresco-Levy et al., 2004). No obstante, en el estudio realizado por Heresco-Levy et al. (2004), dos de los siete pacientes del estudio que recibían dosis de 0,8 g de glicina por kg p.c. (de 40 a 60 g al día según el paciente) abandonaron el tratamiento debido a la aparición de náuseas y malestar digestivo.

En la población de los países occidentales la ingesta dietética de glicina es de unos 3,2 g al día. AFSSA considera que una ingesta diaria total de 4,5 g al día es totalmente segura (AFSSA 2008b).

Con los datos disponibles hasta la fecha, AFFSA considera que no hay base suficiente para la suplementación de glutatión en humanos sanos que siguen una dieta variada y equilibrada con una ingesta calórica adecuada para satisfacer sus necesidades. Sin embargo, también indica que no hay base científica para oponerse a la suplementación con glutatión a una dosis de 50 mg/día (AFSSA, 2008a).

6.1.5 Conclusión

El Comité Científico considera que las evaluaciones toxicológicas realizadas para el glutatión no han revelado riesgos para la salud de los consumidores. Igualmente, los estudios clínicos realizados para valorar la eficacia del glutatión en diferentes situaciones patológicas no han evidenciado efectos adversos secundarios atribuibles a este péptido.

Por todo lo expuesto, el Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de glutatión de 50 mg es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- AFSSA (2008a). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Saisine N° 2007-SA-0231 de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Maisons-Alfort, le 8 septembre 2008.
- AFSSA (2008b). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Métabolisme non protéinogène des acides aminés et toxicité. In *Apport en protéines : consommation, qualité, besoins et recommandations*, pp: 98-142.
- Allen, J. y Bradley, R.D. (2011). Effects of Oral Glutathione Supplementation on Systemic Oxidative Stress Biomarkers in Human Volunteers. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 17, pp: 827-833.
- Brown, L.A.S., Perez, J.A., Harris, F.L. y Clark, R.H. (1996). Glutathione supplements protect preterm rabbits from oxidative lung injury. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 270 (3, Part I), pp: L446-L451.
- Dalhoff, K., Ranek, L., Mantoni, M. y Poulsen, H.E. (1992). Glutathione treatment of hepatocellular carcinoma. *Liver*, 12 (5), pp: 341-343.
- Favilli, F., Marraccini, P., Iantomasi, T. y Vincenzini, M.T. (1997). Effect of orally administered glutathione on glutathione levels in some organs of rats: role of specific transporters. *British Journal of Nutrition*, 78 (2), pp: 293-300.
- Flagg, E.W., Coates, R.J., Eley, J.W., Jones, D.P., Gunter, E.W., Byers, T.E., Block, G.S. y Greenberg, R.S. (1994). Dietary glutathione intake in humans and the relationship between intake and plasma total glutathione level. *Nutrition and Cancer*, 21, pp: 33-46.
- Gannon, M.C., Nuttall, J.A. y Nuttall, F.Q. (2002). The metabolic response to ingested glycine. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76, pp: 1.302-1.307.
- Hagen, T.M. y Jones, D.P. (1989). Role of glutathione in extrahepatic detoxification. En libro: *Glutathione Centennial: Molecular and Clinical Implications*. Sakamoto, Y., Higashi, T., Taniguchi, N. y Meister, A. (Eds). Academic Press, New York, pp: 423-433.
- Hagen, T.M., Wierzbicka, G.T., Bowman, B.B., Aw, T.Y. y Jones, D.P. (1990a). Fate of dietary glutathione: disposition in the gastrointestinal tract. *American Journal of Physiology*, 259, pp: G530-G535.
- Hagen, T.M., Wierzbicka, G.T., Sillau, A.H., Bowman, B.B. y Jones, D.P. (1990b). Bioavailability of dietary glutathione: effect on plasma concentration. *American Journal of Physiology*, 259 (4 Part 1), pp: G524-G529.
- Hahn, R., Wendel, A. y Flohe, L. (1978). The fate of extracellular glutathione in the rat. *Biochimica and Biophysica Acta*, 539 (3), pp: 324-337.
- Heresco-Levy, U., Ermilov, M., Lichtenberg, P., Bar, G. y Javitt, D.C. (2004). High-dose glycine added to olanzapine and risperidone for the treatment of schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 55, pp: 165-171.
- Heresco-Levy, U., Javitt, D.C., Ermilov, M., Mordel, C., Silipo, G. y Lichtenstein, M. (1999). Efficacy of high-dose glycine in the treatment of enduring negative symptoms of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 56, pp: 29-36.
- Hunjan, M.K. y Evered, D.F. (1985). Absorption of glutathione from the gastro-intestinal tract. *Biochimica and Biophysica Acta*, 815 (2), pp: 184-188.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and minerals in food supplements.
- Javitt, D.C., Silipo, G., Cienfuegos, A., Shelley, A.M., Bark, N., Park, M., Lindenmayer, J.P., Suckow, R. y Zukin, S.R. (2001). Adjunctive high-dose glycine in the treatment of schizophrenia. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 4, pp: 385-391.

- Javitt, D.C., Zylberman, I., Zukin, S.R., Heresco-Levy, U. y Lindenmayer, J.P. (1994). Amelioration of negative symptoms in schizophrenia by glycine. *The American Journal of Psychiatry*, 151, pp: 234-236.
- Jones, D.P., Coates, R.J., Flagg, E.W., Eley, J.W., Block, G., Greenberg, R.S., Gunter, E.W. y Jackson, B. (1992). Glutathione in foods listed in the National Cancer Institute's Health Habits and History Food Frequency Questionnaire. *Nutrition and Cancer*, 17, pp: 57-75.
- KOHJIN (2007). Comunicación Personal. [E-mail from Tetsuo Kato, Bio-Chemical Div. Manager of KOHJIN Co., Ltd. to Melody Harwood, Cantox Health Sciences International dated March 29-June 1, 2007 RE:GSH/GRAS Determination]. KOHJIN Co., Ltd.
- Murao, A., Imamura, H., Miyazaki, Y., Katsuno, K., Noda, T., Ohtsuka, A., Ishii, G., Abe, H., Morita, T., Shindo, M., Ozawa, S., Asano, S., Goto, S., Bando, S., Oda, K. y Kuriya, N. (1974). Effect of tathion against hyperemesis during the pregnancy. *Sanfujinka no Sekai*, 26, pp: 1.153.
- Nozaki, Y., Ida, E. y Kotani, Y. (1972). General pharmacological actions of glutathione. *Clinical Reports*, 6, pp: 2.384.
- PDRHealth. (2006). Glutathione. In: PDRHealth. Drug Information: Nutritional Supplements Index. Thomson Healthcare, Greenwood Village, Colorado.
- Potkin, S.G., Jin, Y., Bunney, B.G., Costa, J. y Gulasekaram, B. (1999). Effect of clozapine and adjunctive high-dose glycine in treatment-resistant schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry*, 156, pp: 145-147.
- Rosse, R.B., Theut, S.K., Banay-Schwartz, M., Leighton, M., Scarcella, E., Cohen, C.G. y Deutsch, S.I. (1989). Glycine adjuvant therapy to conventional neuroleptic treatment in schizophrenia: an open-label, pilot study. *Clinical Neuropharmacology*, 12, pp: 416-424.
- Shoham, S., Javitt, D.C. y Heresco-Levy, U. (2001). Chronic high-dose glycine nutrition: effects on rat brain cell morphology. *Biological Psychiatry*, 49, pp: 876-885.
- Sugimura, Y. y Yamamoto, K. (1998). Effect of orally administered reduced-and oxidizedglutathione against acetaminophen-induced liver injury in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 44 (5), pp: 613-624.
- Suzuki, H., Miki, S., Oshima, M. y Sado, T. (1972). Chronic toxicity and teratogenicity studies of glutathione sodium salt. *Clinical Reports*, 6, pp: 2.393-2.401.
- Wierzbicka, G.T., Hagen, T.M. y Jones, D.P. (1989). Glutathione in Food. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2 (4), pp: 327-337.
- Witschi, A., Reddy, S., Stofer, B. y Lauterburg, B.H. (1992). The systemic availability of oral glutathione. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 43 (6), pp: 667-669.

6.2 Lactoferrina

6.2.1 Propuesta

La AESAN propone para la lactoferrina una cantidad máxima diaria de 200 mg. Esta propuesta se basa en la proposición legislativa de Italia en la que se autorizan en complementos alimenticios una cantidad máxima diaria de 200 mg (Italia, 2012) y en la evaluación realizada por la agencia francesa (AFSSA, 2008).

6.2.2 Características y fuentes

La lactoferrina bovina (LFb) es un componente de la fracción proteica de la leche de vaca. Es una glicoproteína de unos 77 kDa. Consta de una única cadena polipeptídica de 689 aminoácidos, sin grupos sulfhidrilo libres pero con enlaces disulfuro intramoleculares. Está glicosilada en dos sitios distintos por N-glicanos del tipo N-acetilactosamina. Estos glicanos se caracterizan por contener residuos de galactosa alfa-1,3-unidos a la posición terminal no reductora. A diferencia de la lactoferrina humana, la LFb contiene también glicanos del tipo oligomannosídico. La estructura terciaria de la lactoferrina tiene dos puntos de unión que le permiten fijar dos iones de Fe (III) por molécula de proteína. Las secuencias de las lactoferrinas humana y bovina muestran una homología de alrededor del 70 % (EFSA, 2012).

La LFb tiene un contenido proteico mínimo del 93 %, del que más del 95 % corresponde a lactoferrina. Puede contener pequeñas cantidades de otras proteínas lácteas, principalmente caseína, alfa-lactoglobulina y beta-lactoglobulina. Contiene usualmente 120 mg de hierro/kg, como máximo un 4,5 % de agua y un 1 % de cenizas. El contenido total de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico, mercurio, cobre) no supera 1 mg/kg (EFSA, 2012). AFSSA coincide con el Comité Neerlandés en que las informaciones relativas a la especificación de la lactoferrina bovina permiten su caracterización (AFSSA, 2008).

La LFb es estable a temperatura ambiente según indican los resultados obtenidos en ensayos de estabilidad de hasta 6 años de duración, manteniéndose sus características químicas (contenido proteico, materia seca y mineral, pH y capacidad de fijación de hierro) y microbiológicas (recuento bacteriano). Sin embargo, el tratamiento térmico de la LFb puede modificar su estado nativo (estructura molecular en el espacio) y las propiedades ligadas al mismo. En el grado de desnaturalización influyen numerosos parámetros (intensidad del tratamiento térmico, pH y grado de saturación de hierro). Se dispone de datos relativos a la estabilidad de la LFb añadida a derivados lácteos, preparados para lactantes, preparados de continuación, etc.

El Comité Neerlandés y AFSSA indican que la afirmación relativa a que los tratamientos térmicos no desnaturalizan la LFb no está justificada. Así, un estudio muestra que la pasteurización de la leche puede inducir una modificación de la estructura terciaria de la LFb y, por tanto, de las propiedades ligadas a ésta (Schwarcz et al., 2008). Sin embargo, AFSSA cuestiona la equivalencia nutricional entre la LFb nativa y la lactoferrina más o menos desnaturalizada, mientras que el Comité Neerlandés considera que la desnaturalizada es igual a la nativa, por lo que en su evaluación considera que toda la lactoferrina se encuentra en forma nativa.

6.2.3 Nutrición y metabolismo

El ser humano ha ingerido lactoferrina bovina durante siglos a través de la leche de vaca, que contiene entre 20 y 200 mg/l, con una media de unos 100 mg lactoferrina/l de leche (King et al., 2007). En los

Países Bajos la ingesta (P90) de lactoferrina a través de los lácteos se ha estimado en 73, 75 y 50 mg/día en niños, jóvenes y adultos, respectivamente. Basándose en los datos de consumo de leche y derivados concluyen que los neerlandeses (mayores de 1 año) consumen diariamente unos 40 mg de lactoferrina. En los países escandinavos esta cifra es mayor, pero se carece de información relativa a países europeos meridionales. En Estados Unidos el consumo de la LFb a partir de los complementos alimenticios oscila entre 10 y 1.200 mg/día (EFSA, 2012).

Según AFSSA, los datos de consumo en adultos indicarían en Francia una ingesta media de LFb nativa comprendida entre 20 y 50 mg/día, dependiendo del tipo de derivados lácteos que se ingieran. Asimismo, señalan que alrededor de 5,3 mg de esta ingesta diaria procede de la leche cruda y de los quesos elaborados con la misma (AFSSA, 2008).

Según el Panel NDA de EFSA la relevancia de los datos de consumo de LFb procedente de los alimentos (lácteos y derivados) es limitada, puesto que la mayoría de ellos se habrán sometido a tratamiento térmico y sólo una pequeña fracción se mantendrá como proteína nativa, mientras que como ingrediente alimentario o complemento alimenticio se utilizará LFb en forma nativa.

En la actualidad en los Estados Unidos y en la Unión Europea la LFb se autoriza y se comercializa como complemento alimenticio y como ingrediente de alimentos para deportistas a una concentración de 100 mg por ración de producto. La LFb recibió el estatuto GRAS en 2001, indicando que en el etiquetado debe declararse como lactoferrina procedente de la leche (FDA, 2001). En 2008, AFSSA emite un dictamen sobre la evaluación del informe inicial de las autoridades neerlandesas relativo a la introducción en el mercado de la LFb sobre la base de la equivalencia sustancial con la lactoferrina de la leche de vaca (AFSSA, 2008).

En los seres humanos, y debido al desarrollo progresivo de la función intestinal, la digestión de la LFb depende de la edad (AFSSA, 2010). En el recién nacido la proteólisis de la LFb es relativamente lenta e incompleta, por lo que es posible encontrarla en las heces de los lactantes. La lactoferrina no degradada procedente de la leche materna se puede absorber y llegar a circulación sistémica, pero no se ha demostrado que ocurra así en el caso de la LFb, aunque sí se ha visto que ocurre en ratones adultos con una función intestinal completa (Fischer, 2007).

No hay razón alguna para suponer que la digestión de la lactoferrina difiera de la de otras proteínas de la dieta, aunque parece que la LFb es relativamente resistente a las enzimas proteolíticas del tracto intestinal. En cualquier caso falta información relativa a la absorción intestinal de la LFb en humanos y en especial en adultos. Se señala que la resistencia de la LFb a la proteólisis podría favorecer la absorción de la molécula más o menos intacta e incluso su acción en el tracto digestivo (AFSSA, 2008).

6.2.4 Seguridad

En ensayos de genotoxicidad *in vitro* con bacterias (test Ames) realizados en cuatro cepas (TA98, TA100, TA1535 y TA1537) de *Salmonella typhimurium* y una de *Escherichia coli* (WP2uvrA), con y sin activación metabólica, no se ha detectado actividad mutagénica alguna a la dosis más alta ensayada de 5 mg LFb/placa (Yamauchi et al., 2000a). Los resultados de estos ensayos permiten excluir por tanto cualquier mutagenicidad debida a la LFb y en consecuencia no parece haber problemas de seguridad en lo que concierne a la genotoxicidad.

Respecto a la alergenicidad, el Panel de EFSA considera que el riesgo de reacciones alérgicas no es distinto al de otros derivados lácteos procedentes de fuentes de ganado vacuno (EFSA, 2012).

Para los estudios en animales, el Panel NDA de EFSA considera que las ratas son una especie apropiada para evaluar la seguridad de la LfB en humanos al haberse demostrado su absorción a nivel intestinal (Kitagawa et al., 2003). La LfB administrada por vía oral se detectó por ELISA en hígado, riñones, vesícula biliar, bazo y cerebro de ratones adultos (Fischer et al., 2007).

Toxicidad aguda: en un estudio (4 semanas) se administraron por sonda gástrica una dosis oral de 0, 200, 600 o 2.000 mg LfB/kg p.c./día a ratas *Sprague-Dawley* adultas. No se observaron efectos adversos a la dosis más alta administrada, por lo que según este estudio el NOAEL es de 2.000 mg/kg p.c. (Nishimura, 1998).

Toxicidad subcrónica: en un estudio de 13 semanas en ratas *Sprague-Dawley* adultas se administró por sonda gástrica, una vez al día, una dosis oral de 0, 200, 600 o 2.000 mg LfB/kg p.c./día a grupos de 12 ratas macho y 12 ratas hembra (n=12/sexo/dosis) (Nishimura, 1998) (Yamauchi et al., 2000b). No se observaron efectos adversos relevantes en ninguno de los grupos. En la ingesta, peso y en los análisis hematológicos, bioquímicos y de orina no se encontraron diferencias estadísticamente relevantes entre los grupos y el grupo control y tampoco en los exámenes oftalmológicos. La determinación de los pesos de órganos seleccionados y los exámenes macroscópicos durante la necropsia no revelaron tampoco efectos tóxicos. Se detectó, como excepción en ratas macho, fibrosis en las isletas del páncreas, con una incidencia y gravedad ligeramente superior en los grupos tratados que en el control. La fibrosis de las isletas del páncreas es una lesión que ocurre con una frecuencia relativamente alta como fenómeno que acompaña al envejecimiento de este tipo de ratas. Sin embargo en los exámenes histopatológicos, la inexistencia de diferencias morfológicas entre el grupo control y el tratado con respecto a la fibrosis de isletas, permite concluir a los autores que esta alteración no es directamente atribuible a la administración de LfB y concluyen por tanto que la dosis más alta administrada (2.000 mg/kg p.c./día) puede considerarse el NOAEL.

Los datos de toxicidad disponibles proceden de un dossier relativo a la solicitud de status GRAS sin detalles sobre los protocolos de ensayos utilizados. Además, no se especifica si en los estudios se aplican o no las Buenas Prácticas de Laboratorio. A pesar de ello AFSSA considera aceptable el nivel de calidad del estudio de 13 semanas en ratas (AFSSA, 2010).

Teniendo en cuenta los datos disponibles, AFSSA considera que no son concluyentes en cuanto a la existencia o inexistencia de una relación causal entre el consumo de la LfB y la aparición de fibrosis en los islotes pancreáticos de rata.

En la opinión científica de EFSA (2012) se señala que en 11 estudios en niños no se mencionan efectos adversos relacionados con la LfB, si bien en 10 de ellos el peso corporal y la talla son los únicos puntos finales relevantes relacionados con la seguridad que no resultan afectados por la LfB. Dadas las limitaciones de los estudios se considera que su importancia es relativa.

Se dispone de al menos 15 estudios en pacientes adultos realizados para valorar la eficacia de la LfB en diversas patologías. En uno de ellos en pacientes postquirúrgicos adultos se evaluó el efecto de una dosis de 20 mg LfB/día durante 5 días sobre la respuesta inmune (Zimecki et al., 2001); en otros estudios de determinó la eficacia de ingestas de LfB comprendidas entre 400 y 7.200 mg/día durante 12 meses en pacientes con hepatitis C crónica (Tanaka et al., 1999) (Okada et al., 2002) (Ishii et al., 2003) (Ueno et

al., 2006) (Kaito et al., 2007); en otros casos se evaluó en pacientes afectados de infecciones por *Helicobacter pylori* (Di Mario et al., 2003, 2006) (Okuda et al., 2005) (Zullo et al., 2005, 2007) (de Bortoli et al., 2007) (Tursi et al., 2007), y en pacientes con síndrome de Sjorgen (Dogru et al., 2007) o con *tineapedis* (Yamauchi et al., 2000b). Los autores de cinco de estos estudios indican la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratado y el control (de Bortoli et al., 2007) (Kaito et al., 2007) o que ninguno de los efectos adversos observados estuvo relacionado con la ingesta de LFb (Yamauchi et al., 2000b) (Di Mario et al., 2003) (Ueno et al., 2006).

En diversos estudios en voluntarios sanos, realizados para demostrar la eficacia de la LFb sobre diferentes funciones inmunológicas y hemostáticas (Yamauchi et al., 1998) (Paesano et al., 2006) (Mulder et al., 2008) (Koikawa et al., 2008), tratados diferentes dosis (en un intervalo de 100 mg a 2.000 mg/día) y duración del tratamiento (de 2 a 4 semanas, según el estudio), no se observaron efectos adversos atribuibles a la lactoferrina.

El Panel NDA de EFSA concluye que en 19 estudios en adultos no se mencionan efectos adversos relacionados con la LFb, si bien los estudios no se diseñaron para estudiar la seguridad de la lactoferrina y en general el tamaño de muestra era reducido (EFSA, 2012).

Aunque se ha señalado: a) una elevada prevalencia de anticuerpos frente a la lactoferrina en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 (Taniguchi et al., 2003); b) que la LFb administrada por vía oral se ha encontrado como proteína nativa en el cerebro de ratones (Fischer et al., 2007); c) que se han hallado concentraciones incrementadas de lactoferrina y/o de sus receptores en las lesiones características de pacientes con enfermedades neurodegenerativas; y d) que la ingesta dietética de LFb puede interferir con la producción y función de la lactoferrina endógena, la historia de uso de la LFb y las pruebas disponibles no parecen suficientes para dudar de la seguridad de la lactoferrina bovina.

En la evaluación de la LFb, el Panel NDA de EFSA considera que se trata esencialmente de una proteína de la leche de vaca, que se encontraría mayoritariamente en forma no desnaturalizada. También observa que la lactoferrina es un componente normal de la leche humana, y que el consumo previsto de LFb se encuentra en el intervalo de contenidos de lactoferrina humana (forma nativa) en la leche materna que ingieren los lactantes.

El Panel NDA de EFSA observa que el consumo medio estimado de lactoferrina, de unos 210 mg/kg p.c./día para niños de hasta 1 año de edad, sería unas diez veces inferior a la dosis más alta (2.000 mg/kg p.c./día) ensayada en un estudio subcrónico de 13 semanas en ratas, que no mostró efectos adversos relacionados con la LFb. En el caso de los adultos mayores de 19 años, la ingesta sería unas 100 veces menor. Los datos disponibles en seres humanos indican la ausencia de efectos adversos de la LFb a los niveles de consumo propuestos, aunque los estudios no se diseñaron para evaluar la seguridad. Por todo lo anterior, el Panel NDA de EFSA concluye que el nuevo ingrediente alimentario, LFb es seguro para los usos y niveles de uso propuestos.

AFSSA por su parte, y coincidiendo con el Comité Neerlandés, estima que la LFb está caracterizada de forma suficiente y que su proceso de fabricación no plantea preocupación alguna. Señala que los ensayos clínicos de suplementación no muestran efectos indeseables ligados a la ingestión de la LFb en adultos, niños y lactantes, aunque el objetivo de tales estudios era evaluar la eficacia y no la seguridad

de la LFb. Por otra parte, considera que los datos toxicológicos presentados en un estudio de 13 semanas no son suficientes para concluir sobre la existencia o no de una relación causal entre el consumo de LFb y la aparición de la fibrosis en los islotes pancreáticos en ratas. Por tanto, concluye que a partir de dichos datos no es posible establecer un NOAEL y que faltaría un estudio de toxicidad a largo plazo, es decir un estudio que evalúe la seguridad/ inocuidad de la LFb, y en una muestra de tamaño suficiente.

Si se considera un NOAEL de 2 g/kg p.c./día, AFSSA señala que se le debería aplicar un factor de seguridad de 100, por lo que los niveles de enriquecimiento deberían ajustarse para asegurar un aporte, a través de la dieta, inferior a 20 mg/kg p.c./día, incluyendo los complementos alimenticios.

6.2.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta realizada por AESAN, de una cantidad máxima diaria de 200 mg/día, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis du 2 septembre 2008 relatif à l'évaluation du rapport d'évaluation initiale établi par les autorités belges concernant la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire: la lactoferrine bovine, dans le cadre du règlement 258/97/CE.
- AFSSA (2010). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'évaluation du rapport d'évaluation initiale des autorités néerlandaises concernant la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire: lactoferrine bovine. Afssa-Saisine N° 2010-SA-0112.
- De Bortoli, N., Leonardi, G., Ciancia, E., Merlo, A., Bellini, M., Costa, F., Mumolo, M.G., Ricchiuti, A., Cristiani, F., Santi, S., Rossi, M. y Marchi, S. (2007). Helicobacter pylori eradication: a randomized prospective study of triple therapy versus triple therapy plus lactoferrin and probiotics. *The American Journal of Gastroenterology*, 102, pp: 951-956.
- Di Mario, F., Aragona, G., DalBo, N., Cavallaro, L., Marcon, V., Olivieri, P., Benedetti, E., Orzes, N., Marin, R., Tafner, G., Chilovi, F., De Bastiani, R., Fedrizzi, F., Franceschi, M., Salvat, M.H., Monica, F., Piazzi, L., Valiante, F., Vecchiati, U., Cavestro, G.M., Comparato, G., Iori, V., Maino, M., Leandro, G., Pilotto, A., Ruggie, M. y Franze, A. (2006). Bovine lactoferrin for Helicobacter pylori eradication: an open, randomized, multicentre study. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 23, pp: 1.235-1.240.
- Di Mario, F., Aragona, G., DalBo, N., Cavestro, G.M., Cavallaro, L., Iori, V., Comparato, G., Leandro, G., Pilotto, A. y Franze, A. (2003). Use of bovine lactoferrin for Helicobacter pylori eradication. *Digestive and liver disease*, 35, pp: 706-710.
- Dogru, M., Matsumoto, Y., Yamamoto, Y., Goto, E., Saiki, M., Shimazaki, J., Takebayashi, T. y Tsubota, K. (2007). Lactoferrin in Sjogren's syndrome. *Ophthalmology*, 114, pp: 2.366-2.367.
- EFSA (2012). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on bovine lactoferrin. *The EFSA Journal*, 10, pp: 2.701.
- FDA (2001). Food and Drug Administration. GRAS Notice No.GRN 000077. Disponible en:<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/GRASListings/ucm154188.htm> [acceso: 27-11-12].
- Fischer, R., Debbabi, H., Blais, A., Dubarry, M., Rautureau, M., Boyaka, P.N. y Tomé, D. (2007). Uptake of ingested bovine lactoferrin and its accumulation in adult mouse tissues. *International Immunopharmacology*, 7, pp: 1.387-1.393.
- Ishii, K., Takamura, N., Shinohara, M., Wakui, N., Shin, H., Sumino, Y., Ohmoto, Y., Teraguchi, S. y Yamauchi, K. (2003). Long-term follow-up of chronic hepatitis C patients treated with oral lactoferrin for 12 months. *Hepatology Research*, 25, pp: 226-233.
- Italia (2012). Ministry of Labour, Health and Social Policies. Regulation of use of substances other than vitamins and

minerals in food supplements.

- Kaito, M., Iwasa, M., Fujita, N., Kobayashi, Y., Kojima, Y., Ikoma, J., Imoto, I., Adachi, Y., Hamano, H. y Yamauchi, K. (2007). Effect of lactoferrin in patients with chronic hepatitis C: combination therapy with interferon and ribavirin. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22, pp: 1.894-1.897.
- King, J.C., Cummings, G.E., Guo, N., Trivedi, L., Readmond, B.X., Keane, V., Feigelman, S. y de Waard, R. (2007). A double-blind, placebo-controlled, pilot study of bovine lactoferrin supplementation in bottle-fed infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 44, pp: 245-251.
- Kitagawa, H., Yoshizawa, Y., Yokoyama, T., Takeuchi, T., Talukder, M.J., Shimizu, H., Ando, K. y Harada, E. (2003). Persorption of bovine lactoferrin from the intestinal lumen into the systemic circulation via the portal vein and the mesenteric lymphatics in growing pigs. *The Journal of Veterinary Medical Sciences*, 65, pp: 567-572.
- Koikawa, N., Nagaoka, I., Yamaguchi, M., Hamano, H., Yamauchi, K. y Sawaki, K. (2008). Preventive effect of lactoferrin intake on anemia in female long distance runners. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 72, pp: 931-935.
- Mulder, A.M., Connellan, P.A., Oliver, C.J., Morris, C.A. y Stevenson, L.M. (2008). Bovine lactoferrin supplementation supports immune and antioxidant status in healthy human males. *Nutrition Research*, 28, pp: 583-589.
- Nishimura, N. (1998). Thirteen-week oral repeated dose toxicity study of monl-01 in rats (Study Number B-3579). Bozo Research Center Inc., Setagaya-ku, Tokyo, Japan.
- Okada, S., Tanaka, K., Sato, T., Ueno, H., Saito, S., Okusaka, T., Sato, K., Yamamoto, S. y Kakizoe, T. (2002). Dose-response trial of lactoferrin in patients with chronic hepatitis *Japanese Journal of Cancer Research*, 93, pp: 1.063-1.069.
- Okuda, M., Nakazawa, T., Yamauchi, K., Miyashiro, E., Koizumi, R., Booka, M., Teraguchi, S., Tamura, Y., Yoshikawa, N., Adachi, Y. e Imoto, I. (2005). Bovine lactoferrin is effective to suppress *Helicobacter pylori* colonization in the human stomach: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 11, pp: 265-269.
- Paesano, R., Torcia, F., Berlutti, F., Pacifici, E., Ebano, V., Moscarini, M. y Valenti, P. (2006). Oral administration of lactoferrin increases hemoglobin and total serum iron in pregnant women. *Biochemistry and Cell Biology*, 84, pp: 377-380.
- Schwarcz, W.D., Carnelocce, L., Silva, J.L., Oliveira, A.C. y Goncalves, R.B. (2008). Conformational changes in bovine lactoferrin induced by slow or fast temperature increases. *Biological Chemistry*, 389, pp: 1.137-1.142.
- Tanaka, K., Ikeda, M., Nozaki, A., Kato, N., Tsuda, H., Saito, S. y Sekihara, H. (1999). Lactoferrin inhibits hepatitis C virus viremia in patients with chronic hepatitis C: a pilot study. *Japanese Journal of Cancer Research*, 90, pp: 367-371.
- Taniguchi, T., Okazaki, K., Okamoto, M., Seko, S., Tanaka, J., Uchida, K., Nagashima, K., Kurose, T., Yamada, Y., Chiba, T. y Seino, Y. (2003). High Prevalence of Autoantibodies Against Carbonic Anhydrase II and Lactoferrin in Type 1 Diabetes: Concept of Autoimmune Exocrinopathy and Endocrinopathy of the Pancreas. *Pancreas*, 27 (1), pp: 26-30.
- Tursi, A., Elisei, W., Brandimarte, G., Giorgetti, G.M., Modeo, M.E. y Aiello, F. (2007). Effect of lactoferrin supplementation on the effectiveness and tolerability of a 7-day quadruple therapy after failure of a first attempt to cure *Helicobacter pylori* infection. *Medical Science Monitor*, 13, pp: CR187-190.
- Ueno, H., Sato, T., Yamamoto, S., Tanaka, K., Ohkawa, S., Takagi, H., Yokosuka, O., Furuse, J., Saito, H., Sawaki, A., Kasugai, H., Osaki, Y., Fujiyama, S., Sato, K., Wakabayashi, K. y Okusaka, T. (2006). Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of bovine lactoferrin in patients with chronic hepatitis C. *Cancer Science*, 97, pp: 1.105-1.110.
- Yamauchi, K., Hiruma, M., Yamazaki, N., Wakabayashi, H., Kuwata, H., Teraguchi, S., Hayasawa, H., Suegara, N. y Yamaguchi, H. (2000b). Oral administration of bovine lactoferrin for treatment of tinea pedis. A placebo-controlled, double-blind study. *Mycoses*, 43, pp: 197-202.
- Yamauchi, K., Toida, T., Kawai, A., Nishimura, S., Teraguchi, S. y Hayasawa, H. (2000a). Mutagenicity of bovine lactoferrin in reverse mutation test. *The Journal of Toxicological Sciences*, 25, pp: 63-66.
- Yamauchi, K., Wakabayashi, H., Hashimoto, S., Teraguchi, S., Hayasawa, H. y Tomita, M. (1998). Effects of orally administered bovine lactoferrin on the immune system of healthy volunteers. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 443, pp: 261-265.
- Zimecki, M., Wlaszczyk, A., Wojciechowski, R., Dawiskiba, J. y Kruzal, M. (2001). Lactoferrin regulates the immune

- responses in post-surgical patients. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis (Warsz)*, 49, pp: 325-333.
- Zullo, A., De Francesco, V., Scaccianoce, G., Hassan, C., Panarese, A., Piglionica, D., Panella, C., Morini, S. y Lerardi, E. (2005). Quadruple therapy with lactoferrin for *Helicobacter pylori* eradication: a randomised, multicentre study. *Digestive and Liver Disease*, 37, pp: 496-500.
- Zullo, A., De Francesco, V., Scaccianoce, G., Manes, G., Efrati, C., Hassan, C., Maconi, G., Piglionica, D., Cannaviello, C., Panella, C., Morini, S. y Lerardi, E. (2007). *Helicobacter pylori* eradication with either quadruple regimen with lactoferrin or levofloxacin-based triple therapy: a multicentre study. *Digestive and Liver Disease*, 39, pp: 806-810.

7. Coenzimas

7.1 Coenzima Q-10 o ubiquinona

7.1.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de 200 mg de coenzima Q-10 o ubiquinona. Dicha propuesta se basa en la autorización existente en Bélgica en complementos alimenticios con un límite mínimo de 4 mg/día y máximo de 200 mg/día (Bélgica, 2009). También en Italia la coenzima Q-10 está autorizado en complementos alimenticios con una cantidad máxima diaria de 200 mg (Italia, 2012).

En Francia existe una evaluación favorable de 30 mg/día de esta sustancia, estando contraindicado en personas en tratamiento con anticoagulantes antagonistas de la vitamina K (AFSSA, 2008).

En Dinamarca la coenzima Q-10 está autorizada en complementos alimenticios con una cantidad total máxima que no debe superar los 180 mg por dosis diaria recomendada (Dinamarca, 2011).

Así mismo, figura en el informe de la Comisión Europea sobre sustancias presentes en complementos alimenticios en la Unión Europea (DG SANCO, 2008).

7.1.2 Características y fuentes

La coenzima Q-10 o ubiquinona (CoQ10) es una molécula cuyo grupo funcional es la benzoquinona que es sintetizada por el organismo humano. Su nombre químico completo es: 2,3-dimetoxi, 5-metil, 6-poliisopreno parabenzoquinona. La CoQ10 es un compuesto de la familia de las benzoquinonas que se encuentra de forma mayoritaria en el organismo humano. Presenta una cadena de poliisopreno de 10 unidades, de ahí su nombre. La CoQ10 puede estar en tres estados de oxidación: totalmente reducido como ubiquinol (CoQ10H₂), radical semiquinona, la forma intermedia (CoQ10H) y la forma totalmente oxidada, ubiquinona (CoQ10) (Crane, 2001).

Dicha coenzima purificada es un polvo cristalino altamente lipófilo y con elevado peso molecular que lo hace insoluble en agua. Estas características hacen difícil su adición a alimentos para su fortificación, especialmente a los que tienen un bajo contenido en grasa.

A pesar de las dificultades para la determinación cuantitativa de la CoQ10 en los alimentos, debido al problema para extraerla de las distintas matrices alimenticias y la diversidad de métodos para su determinación, existen datos del contenido de esta coenzima en ellos. Pravst et al. (2010) han clasificado los alimentos en cinco categorías (A, B, C, D y E) en función de su riqueza en CoQ10. En la categoría A se incluyen los alimentos que contienen más de 50 mg/kg y en la E los que contienen menos de 1 mg/kg. Las carnes y los pescados son las fuentes alimentarias más ricas en CoQ10. Sin embargo, dentro de una misma especie el contenido en los distintos tejidos es diferente de acuerdo con su función (corazón, hígado, músculo, etc.). Las concentraciones de CoQ10 más altas se han encontrado en la carne de reno (158 mg/kg), en el corazón de distintos animales (ternera, cerdo, pollo) y en hígado de pollo (todos clase A). También los pescados azules son fuentes importantes de CoQ10, y las mayores concentraciones se han encontrado en el arenque y la caballa, en vísceras y en músculo, sobre todo en músculo rojo (cinco veces mayor que en el blanco). Dentro de las fuentes vegetales, las más ricas son los aceites. Se han encontrado concentraciones que oscilan entre 100 y 280 mg/kg en aceites de soja, maíz y oliva. En general los aceites con mayor contenido en CoQ10 son los que provienen de plantas de las familias Brasicáceas y Fabáceas. También contienen CoQ10 los frutos secos y los cereales pero en menor cantidad (Pravst et al., 2010).

En 2010 EFSA resolvió la solicitud de declaraciones de salud relacionadas con la ingesta de CoQ10. Estas alegaciones se relacionaban con su contribución a un metabolismo energético normal a través de la síntesis mitocondrial del ATP, el mantenimiento de una presión arterial normal, la protección frente al daño oxidativo del DNA, lípidos y proteínas, su contribución al mantenimiento de una función cognitiva normal, al mantenimiento de concentraciones sanguíneas de colesterol adecuadas y al incremento en la capacidad y/o el rendimiento de resistencia. Todas ellas fueron desestimadas por no poder establecer, en ninguno de los casos, una relación causa-efecto entre la CoQ10 y la declaración alegada (EFSA, 2010).

7.1.3 Nutrición y metabolismo

En el organismo, la CoQ10 se distribuye en todas las membranas celulares tanto unido a sistemas enzimáticos de la membrana, como ocurre en la mitocondria, como flotando en la bicapa lipídica de distintas membranas celulares (Crane, 2001). La CoQ10 que se localiza en la membrana interna de la mitocondria participa en el proceso de la respiración celular, formando parte de los sistemas enzimáticos de la cadena respiratoria. A través de este proceso la célula obtiene la energía química (ATP) necesaria para su crecimiento y el mantenimiento estructural y funcional.

Este compuesto tiene otras funciones, además de la descrita. Actúa en el organismo como antioxidante endógeno no enzimático protegiendo a las células, y en especial a las membranas celulares, de los daños que los radicales libres pueden provocar en importantes componentes como el DNA, lípidos y proteínas. De hecho, las concentraciones plasmáticas de CoQ10 se han utilizado como marcador de estrés oxidativo. Se conoce, como se ha mencionado, que el grupo quinona puede estar oxidado (quinona) o reducido (quinol). Además de su acción antioxidante directa, la CoQ10 también recupera los radicales tocoferil reduciéndolos a tocoferol. El porcentaje de la forma reducida presente en las membranas y en el suero oscila entre el 30 y el 90 % dependiendo del estado metabólico de la célula.

También se han propuesto otras acciones de este compuesto en distintas vías de señalización celular y sobre la expresión génica a través de la producción de peróxidos y de la modulación del estado *redox* de los grupos tiol (Crane, 2001).

Al ser una sustancia liposoluble su absorción se realiza junto a los lípidos de la dieta con un mecanismo semejante al de la vitamina E. Se ha demostrado que en el mismo enterocito la ubiquinona absorbida se transforma en su forma reducida, el ubiquinol que es la principal forma circulante (95 % de la CoQ10 total). Tras su absorción intestinal, se libera al torrente sanguíneo con los quilomicrones que, como remanentes, son captados por el hígado y así la CoQ10 se incorpora a este órgano. El hígado exporta de nuevo la CoQ10 a los distintos tejidos a través de las lipoproteínas VLDL y LDL (Crane, 2001).

En general, los tejidos con mayores requerimientos de energía o con una alta actividad metabólica como el corazón, riñón, hígado y músculo contienen mayores concentraciones relativas de CoQ10. También, y por su naturaleza química, se relaciona con el contenido lipídico de los diferentes tejidos y órganos. La mayor proporción del contenido tisular de la coenzima se encuentra en la forma reducida excepto en pulmones y cerebro, lo que parece reflejar el mayor estrés oxidativo de estos órganos (Crane, 2001).

Su biodisponibilidad es muy baja debido a su hidrofobicidad y al tamaño molecular. Por tanto, cuando se trata de suplementos nutricionales, la cantidad de sustancia absorbida dependerá de la naturaleza de la formulación utilizada, siendo las fórmulas solubilizadas las más biodisponibles.

Las concentraciones plasmáticas de CoQ10 en individuos sanos oscilan entre 0,20 y 1,91 $\mu\text{mol/l}$ (Bhagavan y Chopra, 2006).

Su metabolismo no es bien conocido aunque se ha descrito que la concentración máxima en plasma se alcanza, en la mayoría de los estudios farmacocinéticos, a las 6,5 horas de su ingesta oral, con un segundo incremento a las 24 horas. La excreción se realiza mayoritariamente por bilis y heces aunque una pequeña fracción es excretada en orina (principalmente los metabolitos fosforilados). Presentan una cierta circulación enterohepática lo que puede explicar ese segundo pico a las 24 horas de su ingesta oral, junto con su redistribución que tiene lugar desde el hígado a la circulación. La vida media es de 33,19 horas.

La cantidad total de CoQ10 en el organismo humano es de unos 2 gramos y diariamente debe remplazarse, por síntesis endógena y a través de la dieta, 0,5 g (Bliznakov y Wilkins, 1998), por lo que el *turnover* medio es de aproximadamente 4 días (Ernster y Dallner, 1995), siendo la importancia de las fuentes exógenas mayor cuando existen problemas en la síntesis endógena (Pravst et al., 2010).

El contenido en CoQ10 en la dieta de los países desarrollados oscila entre 3 y 6 mg/día y proviene, predominantemente, del consumo de carnes (incluida la carne de ave) ya que los alimentos vegetales contribuyen de forma escasa (Weber et al., 1997) (Mattila y Kumpulainen, 2001) (Kubo et al., 2008) (Pravst et al., 2010). El 50 % corresponde a ubiquinol. La ingesta dietética de CoQ10 no afecta, de forma significativa, a los niveles plasmáticos de la coenzima (Kaikkonen et al., 1999).

En circunstancias normales, y debido a la biosíntesis endógena, *de novo*, los tejidos no son dependientes de un aporte exógeno de esta coenzima por lo que su aporte exógeno, aparte del dietético, no es necesario (Bhagavan y Chopra, 2006). Sin embargo, algunos autores apuntan que en ciertas condiciones como el estrés y el envejecimiento la producción endógena puede no cubrir las demandas de esta coenzima (Bhagavan y Chopra, 2006), por lo que debería aportarse a partir de fuentes exógenas.

En la actualidad se ha generalizado el consumo de complementos alimenticios de CoQ10 debido a las funciones que realiza en el organismo relacionadas con la generación celular de energía en la mitocondria, su papel en la defensa antioxidante frente al estrés provocado por la formación de especies reactivas de oxígeno y como molécula de señalización celular en determinadas rutas funcionales y en la expresión génica. Estos complementos son, en unos casos, consumidos por individuos sanos por sus posibles propiedades anti-envejecimiento y de salud debido a su papel en la prevención de ciertas enfermedades crónicas que, en su origen, parecen deberse a un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y las defensas antioxidantes (enfermedades cardiovasculares, diabetes, etc.) (MedlinePlus, 2012).

Los contenidos de CoQ10 disponibles en complementos alimenticios para personas sanas oscilan entre 15 y 100 mg (Bhagavan y Chopra, 2006). En pacientes con enfermedad cardiovascular las dosis oscilan entre 100 y 200 mg/día (Langsjoen y Langsjoen, 1998). Dosis más altas, del orden de 15 mg/kg p.c./día, se están empleando en casos de citopatías mitocondriales (Gold y Cohen, 2001). Dosis de 600 a 1.200 mg/día se han utilizado en pacientes con alteraciones neurológicas (Huntington y Parkinson) (Kiebertz, 2001) (Shults et al., 2002). La ingesta de CoQ10, sugerida por algunos autores, proveniente de fuentes exógenas se ha establecido, para individuos sanos, entre 30 y 100 mg y de 600 a 1.200 mg cuando es utilizado como terapia complementaria en distintas condiciones patológicas (Jones et al., 2002) (Bonakdar y Guarneri, 2005) (Challem, 2005).

La ingesta de complementos de CoQ10 provoca incrementos en las concentraciones plasmáticas de la coenzima. Estos incrementos de la coenzima en plasma vienen determinados por: 1) la dosis ingerida; 2) la formulación; y 3) el periodo de consumo.

Respecto a la formulación, los productos que actualmente están disponibles en el mercado incluyen, comprimidos, comprimidos masticables, cápsulas duras rellenas de polvo, cápsulas blandas con suspensión oleosa y en los últimos años fórmulas de CoQ10 solubilizadas en geles blandos o líquidos.

En relación con la dosis, los complementos alimenticios dirigidos a la población en general contienen un amplio intervalo de dosis, entre 30 y 300 mg se consideran dosis bajas o medias, mientras que los preparados de CoQ10 con fines terapéuticos contienen cantidades que oscilan entre los 600 y 3.000 mg. Estas se consideran dosis altas, aunque en ocasiones se utilizan, con estos fines, complementos con dosis menores (por ejemplo, 300 mg) (Bhagavan y Chopra, 2007).

Los estudios realizados con dosis bajas o medias muestran que existen una relación dosis respuesta en las concentraciones plasmáticas de CoQ10. Sin embargo, si lo expresamos por 100 mg de CoQ10 ingeridos, los niveles plasmáticos van disminuyendo conforme aumenta la dosis. Esto muestra que la biodisponibilidad de la coenzima disminuye al aumentar la dosis. Cuando utilizamos preparados con dosis altas el comportamiento es parecido aunque las concentraciones plasmáticas alcanzadas son mayores. Si consideramos todo el rango de dosis (30 mg y 3.000 mg) observamos un *plateau* para complementos con 2.400 mg, no incrementando las concentraciones plasmáticas con dosis de 3.000 mg. Para dosis altas se observa una gran reducción en el incremento neto de la concentración plasmática de CoQ10 al expresarlo por 100 mg ingeridos. Este comportamiento es esperable ya que la CoQ10 es un compuesto liposoluble que al ingerirse a dosis altas disminuye la eficacia de absorción (dosis farmacológicas). También cabe mencionar que, a dosis altas, los preparados de CoQ10 contienen cantidades importantes de vitamina E (800-1.500 UI) y se conoce que esta vitamina interfiere la absorción de la coenzima por lo que los efectos observados no solo pueden atribuirse al contenido elevado en CoQ10 (Bhagavan y Chopra, 2007).

En relación con el tipo de preparado galénico hay unanimidad en afirmar que la biodisponibilidad, tanto en la administración aguda como crónica, de los complementos de CoQ10 aumenta en los que contienen el principio activo solubilizado frente a los que se presenta en suspensión oleosa (cápsulas blandas) y, como menos biodisponibles, los que están basados en polvo (comprimidos normales o masticables y capsulas rígidas rellenas del polvo) (Bhagavan y Chopra, 2007).

Como hemos mencionado previamente, la ubiquinona (forma no reducida de la CoQ10) es transformada en ubiquinol en el enterocito, antes de ser liberada a la circulación linfática. Además, alrededor del 95 % de la CoQ10 circulante está en forma de ubiquinol. Por este motivo, en los últimos años se han comercializado gran cantidad de complementos dietéticos de CoQ10 reducida (ubiquinol). Se ha podido comprobar que este compuesto reducido se absorbe mejor que la ubiquinona y tras su ingestión las concentraciones plasmáticas que se alcanzan son superiores a las obtenidas tras la ingesta de ubiquinona a dosis semejantes, en cualquiera de sus formas galénicas y para dosis bajas, medias y altas. En el caso de dosis altas, la eficacia se incrementa si se administra la dosis partida en dos tomas (Bhagavan y Chopra, 2007).

La mayor concentración sanguínea de CoQ10 encontrada en humanos tras la ingestión de un suplemento ha sido de 10,7 $\mu\text{mol/l}$, aunque no se ha determinado si este sería su techo plasmático. Tampoco

está aclarado si a estas concentraciones aporta su beneficio terapéutico máximo. Esta concentración máxima se ha conseguido con un suplemento de ubiquinol solubilizado (Bhagavan y Chopra, 2006).

Independientemente de que se utilice en la formulación del suplemento ubiquinona o ubiquinol, las formas solubilizadas son mejor absorbidas y provocan mayores subidas en las concentraciones plasmáticas de CoQ10.

Además de los ya mencionados, dosis y tipo de preparación galénica, existen otros factores que afectan a las concentraciones plasmáticas de CoQ, entre ellos podemos citar la cantidad de grasa de la dieta, con una relación directa, el contenido, en el suplemento o en la dieta, de vitamina E, colesterol, triglicéridos, género y edad (Bhagavan y Chopra, 2007).

Uno de los aspectos relacionados con la función saludable que la CoQ10 puede tener en el organismo es, tras su absorción y el incremento en las concentraciones plasmáticas, su captación por los tejidos y en especial por las membranas celulares y concretamente por la membrana mitocondrial. Se ha descrito que para su captación tisular y para que pueda atravesar la barrera hematoencefálica las concentraciones plasmáticas deben ser superiores a las normales antes mencionadas. El umbral de concentración plasmática para su captación tisular difiere, dependiendo del tejido considerado. Así, en pacientes con fallo cardiaco congestivo la captación de CoQ10 se observa a partir de concentraciones plasmáticas de 2,4 µg/ml (2.780 µmol/l). Otro estudio en este mismo tipo de pacientes establece el umbral en 3,5 µg/ml (4.054 µmol/l). En el caso de pacientes con enfermedades neurodegenerativas (Huntington y Parkinson) los umbrales de captación por el cerebro son mayores (Bhagavan y Chopra, 2007).

Existen sólidas pruebas de que la CoQ10 exógena no afecta, regulando "a la baja" su síntesis endógena ya que las concentraciones plasmáticas de la coenzima retornan a sus niveles basales tras el cese de la suplementación independientemente de la dosis administrada y si la sustancia administrada es ubiquinona o ubiquinol (Ikematsu et al., 2006) (Bhagavan y Chopra, 2007) (Hosoe et al., 2007).

Uno de los aspectos que han emergido en el uso de complementos alimenticios es la posibilidad de existencia de interacciones complementos-fármacos. En este sentido, en el caso de la CoQ10 se han descrito con bastante apoyo de literatura científica sus interacciones con las antraciclínicas y estatinas. Las antraciclínicas, como la doxorubicina y daunorrubicina son fármacos anticancerosos de eficacia probada pero también son cardiotóxicos, causando daños irreversibles de las mitocondrias miocárdicas. Este efecto adverso puede ser contrarrestado por la administración de CoQ10 sin afectar su efecto antitumoral. Por otro lado, las estatinas, fármacos hipocolesteremiantes por su actividad inhibitoria de la hidroximetilglutaril-CoA reductasa, también bloquean la síntesis de CoQ10 lo que conduce a su depleción tisular. Esta depleción se ha descrito que conduce a miopatías en algunos casos, y en otros extremos a la rabdomiólisis. Estos efectos pueden revertir con la administración de CoQ10. También, los beta-bloqueantes pueden afectar el estatus de CoQ10 por inhibición de los enzimas dependientes de esta coenzima. Lo mismo ocurre con algunos hipoglucemiantes orales como la gliburida, fenformina y tolazamina. Además, se ha descrito que la CoQ10 mejora el control glucémico en diabéticos por lo que se sugiere que los enfermos que tomen complementos de CoQ10 deben ajustarse la dosis de los fármacos hipoglucémicos. Por último, y debido a su similitud estructural con la vitamina K, se ha sugerido la posible acción procoagulante de la CoQ10. Por esta razón, aquellos pacientes con terapia anticoagulante podrían tener necesidad de controlar su INR (Relación normalizada internacional del tiempo de protrombina) y así ajustar su dosis anticoagulante en consecuencia (Bhagavan y Chopra, 2006).

7.1.4 Seguridad

La seguridad de los complementos de CoQ10 ha sido estudiada por diferentes autores, tanto la de la ubiquinona como del ubiquinol teniendo en cuenta que es una molécula que se encuentra de forma natural en nuestro organismo.

Los estudios realizados con CoQ10, en cualquiera de sus formas se han basado en los métodos del Consejo para una Nutrición Responsable (CRN) (Hathcock, 2004) que incluye las características de la determinación un valor UL del *US Food and Nutrition Board* (FNB) y también la modificación del nivel seguro observado (OSL) adoptado como la mayor ingesta observada (HOI) por la FAO/OMS. Puesto que los datos disponibles de distintos ensayos clínicos en humanos, aleatorizados y controlados por placebo, de suficiente tamaño y duración, no establecían efectos adversos se utilizó en lugar del NOAEL o el LOAEL para establecer el UL (NOAEL/UF), el OSL del CRN y el HOI de FAO/OMS.

No se ha observado un patrón sistemático de efectos adversos con dosis relativamente altas en enfermos de Parkinson (2.400 mg, 1.200 mg y 600 mg). En otros estudios tampoco se han observado efectos con rangos de dosis entre 390-100 mg/día en individuos sanos y con distintas patologías (Hathcock y Shao, 2006).

En algunos estudios se observó la aparición de náuseas, ardor de estómago, malestar gástrico o efectos relacionados a dosis de 600 mg en cardiopatas y 1.200 mg en Huntington y 120-180 mg en angina de pecho, en HFD e infartados y 60 mg en sujetos con oligospermia. Sin embargo, muchos de estos trastornos aparecían también en el grupo placebo no existiendo diferencias significativas. En conjunto los estudios aportan pruebas sólidas de que no hay un patrón sólido de incidencia de náuseas, efectos gastrointestinales relacionados u otros efectos adversos en periodos de unos pocos meses (Hathcock y Shao, 2006).

Se han administrado dosis de 3.000 mg/día en tres estudios a pequeños grupos de pacientes sin efectos adversos (aunque no había grupo control). El mayor estudio de los tres aporta pruebas sustanciales pero no concluyentes de seguridad a esta dosis (Hathcock y Shao, 2006).

El estudio más importante por su tamaño, 80 sujetos, y duración, 16 meses, en enfermos de Parkinson, con dosis de 300-1.200 mg/día muestra que no aparecen efectos adversos como náuseas y otros relacionados (Shults et al., 2002).

No existe, en ningún estudio, relación dosis-respuesta en la aparición de náuseas u otros efectos adversos. Se apunta a que puede existir causalidad con algún componente del suplemento. Las náuseas se han descrito con dosis de 60 mg/día y 1.200 mg/día y con igual incidencia y severidad en el grupo placebo en la mayoría de los estudios. Como posibles causantes se han mencionado el vehículo del suplemento (aceite) o el material de la cápsula. Puede que en pacientes con patologías que cursan con dolor (angina, infarto, etc.), este sea el que precipite la náuseas (Hathcock y Shao, 2006).

En conjunto, la evaluación del riesgo obtenida a partir del análisis de los diferentes ensayos clínicos con dosis que iban desde 3.000 mg/día hasta 600 mg/día ha permitido establecer una OSL para sujetos sanos de 1.200 mg/día/persona, ya que a esta dosis no se presentaban efectos adversos atribuibles a la CoQ10, y según los autores (Hathcock y Shao, 2006) (Hidaka et al., 2008) no existe ningún mecanismo conocido que sugiera que los enfermos de Huntington y de la enfermedad de Parkinson sean menos susceptibles a los efectos adversos de la CoQ10 que los adultos sanos.

Los estudios de toxicidad en animales han permitido establecer una IDA de 12 mg/kg p.c./día. Tampoco se han encontrado efectos genotóxicos (Hidaka et al., 2008).

Se concluye del conjunto de datos disponibles que la CoQ10 no presenta efectos agudos, subagudos, crónicos o reproductivos y del desarrollo a las dosis propuestas (Hosoe et al., 2007) (Hidaka et al., 2008).

No se dispone de información suficiente sobre la seguridad del uso de la CoQ10 durante el embarazo y la lactancia.

7.1.5 Conclusión

Los estudios toxicológicos realizados no han mostrado efectos adversos de la coenzima Q10. Por ello, y considerando que se ha establecido el OSL en 1.200 mg/día, el Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 200 mg de coenzima Q10 es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Maisons-Alfort, le 8 septembre 2008. Disponible en: <http://www.anses.fr/Documents/NUT2007sa0231q.pdf> [acceso: 27-11-12].
- Bélgica (2009). Arrêté Royal du 19 février 2009 relatif à la fabrication et au commerce de compléments alimentaires contenant d'autres substances que des nutriments et des plantes ou des préparations de plantes (Mon. 18. III. 2009). Disponible en http://www.ejustice.just.fgov.be/doc/rech_f.htm [acceso: 27-11-12].
- Bhagavan, H.N. y Chopra, R.K. (2006). Coenzyme Q10: absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radical Research*, 40 (5), pp: 445-453.
- Bhagavan, H.N. y Chopra, R.K. (2007). Plasma coenzyme Q10 response to oral ingestion of coenzyme Q10 formulations. *Mitochondrion*, 7, pp: 578-88.
- Bliznakov, E.G. y Wilkins, D.J. (1998). Biochemical and clinical consequences of inhibiting coenzyme Q10 biosynthesis by lipid-lowering HMG-CoA reductase inhibitors (statins): A critical review. *Advances in Therapy*, 15 (4), pp: 218-228.
- Bonakdar, R.A. y Guarneri, E. (2005). Coenzyme Q10. *American Family Physician*, 72 (6), pp: 1065-1070.
- Challem, J. (2005). Nutrients that enhance energy and prevent DNA damage. En libro: *Feed Your Genes Right*. John Wiley & Sons, New Jersey, Hoboken, pp. 41-53.
- Crane, F.L. (2001). Biochemical functions of coenzyme Q10. *Journal of the American College of Nutrition*, 20 (6), pp: 591-598.
- DG SANCO (2008). Directorate Generale for Health and Consumers. Characteristics and perspectives of the market for food supplements containing substances other than vitamins and minerals. Commission staff working document. COM (2008) 824 final. SEC(2008)2977.
- Dinamarca (2011). Bekendtgørelse om tilsætning af visse andre stoffer end vitaminer og mineraler til fodevarer. Lotvindinge A. Nr 888, 12 august 2011.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to coenzyme Q10 and contribution to normal energy-yielding metabolism (ID 1508, 1512, 1720, 1912, 4668), maintenance of normal blood pressure (ID 1509, 1721, 1911), protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 1510), contribution to normal cognitive function (ID 1511), maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 1721) and increase in endurance capacity and/or endurance performance (ID 1913) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 8 (10), pp: 1793.

- Ernster, L. y Dallner, G. (1995) Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimical Biophys Acta*, 1.271 (1), pp: 195-204.
- Gold, D.R. y Cohen, B.H. (2001). Treatment of mitochondrial cytopathies. *Seminars in Neurology*, 21, pp: 309-325.
- Hathcock, J. (2004). En libro: *Vitamin and Mineral Safety*. Council for Responsible Nutrition, Washington, DC.
- Hathcock, J.N. y Shao, A. (2006). Risk assessment for coenzyme Q10 (Ubiquinone). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 45 (3), pp: 282-288.
- Hidaka, T., Fujii, K., Funahashi, I., Fukutomi, N. y Hosoe, K. (2008). Safety assessment of coenzyme Q10 (CoQ10). *Bio-Factors*, 32, pp: 199-208.
- Hosoe, K., Kitano, M., Kishida, H., Kubo, H., Fujii, K. y Kitahara, M. (2007). Study on safety and Bioavailability of ubiquinol (Kaneka QH) after single and 4-week multiple oral administration to healthy volunteers. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 47 (1), pp: 19-28.
- Ikematsu, H., Nakamura, K., Harashima, S., Fujii, K. y Fukutomi, N. (2006). Safety assessment of coenzyme Q10 (Kaneka Q10) in healthy subjects: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 44, pp: 212-218.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiologico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 27-11-12].
- Jones, K., Hughes, K., Mischley, L. y McKenna, D.J. (2002). Coenzyme Q10: Efficacy, safety, and use. *Alternative Therapies In Health And Medicine*, 8, pp: 42-55.
- Kaikkonen, J., Nyyssonen, K., Tuomainen, T.P., Ristonmaa, U. y Salonen, J.T. (1999). Determinants of plasma coenzyme Q10 in humans. *FEBS Letters*, 443, pp: 163-166.
- Kiebertz, K. (2001). The Huntington Study Group. A randomized placebo-controlled trial of coenzyme Q10 and remacemide in Huntington's disease. *Neurology*, 57, pp: 397-404.
- Kubo, H., Fujii, K., Kawabe, T., Matsumoto, S., Kishida, H. y Hosoe, K. (2008). Food content of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in the Japanese diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, pp: 199-210.
- Langsjoen, P.H. y Langsjoen, A.M. (1998). Coenzyme Q10 in cardiovascular disease with emphasis on heart failure and myocardial ischemia. *The Asia Pacific Heart Journal*, 7, pp: 160-216.
- Mattila, P. y Kumpulainen, J. (2001). Coenzymes Q9 and Q10: Contents in foods and dietary intake. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, pp: 409-417.
- MedlinePlus (2012). Coenzima Q10. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/natural/938.html> [acceso 27-11-12].
- Pravst, I., Katja, Ž. y Janko, Ž. (2010). Coenzyme Q10 Contents in Foods and Fortification Strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50 (4), pp: 269-280.
- Shults, C.W., Oakes, D., Kiebertz, K., Beal, F.L., Haas, R., Plumb, S., Juncos, J.L., Nutt, J., Shoulson, I., Carter, J., Kompoliti, K., Perlmutter, J.S., Reich, S., Stern, M., Watts, R.L., Kurlan, R., Molho, E., Harrison, M., Lew, M. y the Parkinson Study Group (2002). Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson disease. *Archives of Neurology*, 59, pp: 1.541-1.550.
- Weber, C., Bysted, A. y Holmer, G. (1997). The coenzyme Q10 content of the average Danish diet. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 67, pp: 123-129.

8. Flavonoides y carotenoides

8.1 Astaxantina de crustáceos y pescados

8.1.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de 4 mg de astaxantina de crustáceos y pescados. Dicha propuesta se basa en la existencia de una autorización en el Reino Unido de 4 mg/día de astaxantina en complementos alimenticios establecida mediante una equivalencia sustancial (artículo 5 del Reglamento (CE) N° 258/1997 (UE, 1997)) de la astaxantina del alga *Haematococcus pluvialis* respecto a cápsulas con *H. pluvialis* desecada comercializadas previamente en la Unión Europea (ACNFP, 2004). Por otra parte, existe una evaluación favorable en Francia considerando 6 mg/día (AFSSA, 2008) y en Italia la astaxantina está autorizada en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2012).

8.1.2 Características y fuentes

La astaxantina (3S,3'S-dihidroxi- β , β -caroteno-4-4'diona) es un carotenoide de peso molecular 596,85 daltons y número CAS 472-61-7, caracterizada por la presencia de grupos hidroxílicos y cetónicos sobre los ciclos terminales.

Se encuentra de forma natural en levaduras (*Xanthophyllomices dendrorhus*) y en ciertas algas microscópicas presentes en el fitoplancton (*Haematococcus pluvialis*). Los vegetales superiores y los animales carecen de los sistemas enzimáticos necesarios para su síntesis *de novo*. No obstante, peces como el salmón y la trucha y crustáceos como la gamba o la langosta, al alimentarse de fitoplancton, pueden considerarse fuente de astaxantina.

En la naturaleza, la astaxantina se encuentra conjugada con proteínas o esterificada con uno o dos ácidos grasos (ácidos oleico, linoleico, palmítico, linolénico) como astaxantina acilmonoéster o diéster (Kidd, 2011). El isómero de origen natural es el 3S3'S mientras que la forma sintética utilizada en las piscifactorías para la cría del salmón y de la trucha, es el isómero 3R3'S (Guerin et al., 2003).

En la Unión Europea la astaxantina está autorizada como colorante en la alimentación animal (BOE, 1994) (UE, 2008).

8.1.3 Nutrición y metabolismo

La biodisponibilidad de la astaxantina es comparable a la del beta-caroteno. Tras su ingestión, las formas esterificadas son hidrolizadas por los enzimas digestivos. La astaxantina libre sufre una absorción pasiva, favorecida por la presencia de lípidos en la dieta y se distribuye mediante la unión a lipoproteínas de alta y baja densidad (Guerin et al., 2003) (Kidd, 2011). La concentración máxima plasmática se alcanza a las 6 horas de la administración (1,2 mg/l) pudiendo persistir hasta 76 horas, dependiendo de la dosis administrada (Kidd, 2011). Se ha comprobado que dosis diarias muy pequeñas (1 mg), administradas durante 4 semanas, pueden incrementar significativamente los niveles plasmáticos basales de astaxantina en adultos (Miyazawa et al., 2011).

A diferencia de lo que ocurre con otros carotenoides, el metabolismo hepático no conduce a la producción de metabolitos activos, si bien estudios *in vitro* sobre células hepáticas han mostrado que altas concentraciones de astaxantina incrementan la actividad de las enzimas CYP3A4 y CYP2B6 (Kistler et al., 2002).

A pesar de que en la literatura científica se atribuyen a la astaxantina un gran número de efectos beneficiosos, las solicitudes efectuadas a EFSA en el marco del Reglamento (CE) N° 1924/2006 (UE, 2006) sobre propiedades saludables no han sido aprobadas (EFSA, 2009, 2011).

La astaxantina es ampliamente utilizada como aditivo en alimentación animal con el fin de proporcionar un color rosa a la carne del salmón y otros productos de acuicultura. Los salmones silvestres pueden contener hasta 40 mg de astaxantina/kg de carne. Los contenidos de astaxantina en salmones y truchas de acuicultura se estiman en 1-9 mg/kg y 0-25 mg/kg, respectivamente. EFSA, en relación con un aditivo utilizado en alimentación animal que contiene un 11 % de dimetilsuccinato de astaxantina, consideró que el enriquecimiento en la alimentación de los peces a la concentración de 100 mg/kg no representaba un riesgo adicional para el consumidor (EFSA, 2007).

No se dispone de datos de ingesta de astaxantina pero EFSA, a partir de diferentes fuentes, estimó que en la población adulta europea la ingesta más alta (percentil 97,5) de astaxantina es debida al consumo de pescado (103 g/persona/día) o de pescado y mariscos (165 g/persona/día). Tomando estos datos y considerando que todo el pescado es salmón o trucha de piscifactoría alimentados con los contenidos más altos de astaxantina, la ingesta estaría comprendida entre 1,6 (pescado) y 4,1 mg/persona/día (pescado y mariscos). Si se consideran los contenidos de astaxantina del salmón rojo (*Oncorhynchus nerka*) la ingesta sería de entre 3,0 y 6,3 mg/persona/día (EFSA, 2005).

En España el consumo de pescado es más elevado que otros países europeos. Mientras que en Europa el mismo estudio de EFSA señala un consumo medio de 13 g de trucha y salmón/persona/día y de 80 g de trucha, salmón y marisco/persona/día, en España el consumo medio en la población de consumidores de trucha, salmón y crustáceos en general es, según datos recogidos en la Encuesta Nacional de Ingesta Dietética Española, de 77,48; 51,89 y 28,51 g/persona/día, respectivamente, y en el percentil 97,5 el consumo alcanza los 266,67; 100 y 110 g/persona/día (datos no publicados). En base a estos datos, la ingesta máxima de astaxantina por la población española en consumidores de estos alimentos podría estimarse en 1,95 mg/día.

8.1.4 Seguridad

Estudios *in vivo* e *in vitro*

El estudio de la toxicidad aguda y subcrónica de la astaxantina en ratas *Wistar* determinó una DL_{50} por vía oral superior a 12 g/kg p.c. En el ensayo subcrónico en el que las ratas fueron alimentadas durante 90 días con 1, 5 y 20 % de biomasa de *H. pluvialis* rica en astaxantina (peso/peso) no se observaron cambios en el peso de las ratas ni alteraciones en los parámetros hematológicos respecto al grupo control. A la dosis más alta se observó un ligero aumento de la fosfatasa alcalina y un incremento en el peso de los riñones en ambos sexos. El análisis histopatológico no reveló efectos adversos, únicamente se observó, en la mitad de las ratas tratadas, un incremento en la pigmentación del túbulo proximal del riñón. El valor del NOAEL estimado en este ensayo fue de 465 mg y 557 mg astaxantina/kg p.c./día para machos y hembras, respectivamente (Stewart et al., 2008). La evaluación de la distribución de la astaxantina en diferentes tejidos de ratas evidenció una acumulación de la misma en riñones, bazo y glándulas suprarrenales y en menor medida en hígado, corazón y ojos (Petri y Lundebye, 2007).

También en ratas *Wistar* se estudió el efecto de la astaxantina sobre la activación metabólica del promutágeno benzo(a)pireno inducida por la enzima CYP1A. En el hígado de las ratas tratadas durante 3

días por vía oral con 100 mg de astaxantina/kg p.c./día, se observó un incremento significativo del mRNA CYP1A1, de la proteína y de su actividad (5,5; 8,5 y 2,5 veces, respectivamente). Como consecuencia, la mutagenicidad del benzo(a)pireno en el test de Ames fue mayor en las ratas tratadas con astaxantina en comparación al grupo control (Ohno et al., 2011).

Sin embargo, al contrario de lo que se observa en ratas, en un estudio en hepatocitos humanos realizado en 2002 la astaxantina se mostró como un inductor de las enzimas CYP3A4 y CYP2B6, pero no de las CYP1A (Kistler et al., 2002).

Por otra parte, EFSA en su evaluación de la seguridad de la utilización de un aditivo que contiene aproximadamente un 11 % de dimetildisuccinato de astaxantina incluye los resultados de los estudios de toxicidad aguda y toxicidad subcrónica de 90 días en ratas (con resultados negativos), de genotoxicidad *in vivo* e *in vitro* (con resultados negativos), de toxicidad crónica de 52 semanas en ratas y dos estudios de carcinogenicidad en rata y ratón.

En el estudio de toxicidad crónica en ratas se apreciaron cambios en los parámetros lipídicos y nódulos inflamatorios en el hígado a dosis superiores a 125 mg/kg p.c./día.

A partir de los resultados de los ensayos de carcinogenicidad, EFSA estableció para los preparados sintéticos de astaxantina un valor del NOAEL inferior a 40 mg/kg p.c./día en ratas. En la evaluación de la carcinogenicidad de astaxantina en ratón, tras 6 meses de tratamiento, se observaron anomalías en el metabolismo lipídico y se estableció un NOAEL de 14 mg/kg p.c./día y un LOAEL de 300 mg/kg p.c./día (EFSA, 2007).

Estudios en humanos

En el caso del hombre la mayor parte de los estudios realizados han ido dirigidos a conocer los posibles efectos beneficiosos pero muy pocos estudios preclínicos aportan información sobre la seguridad de la astaxantina. Varios trabajos afirman que suplementaciones de astaxantina de 4, 6 y 21,6 mg/día durante 3, 8 y 2 semanas, respectivamente, no entrañan efecto secundario alguno (AFFSA 2008) (Spiller y Dewell, 2003).

Un estudio realizado con 73, 38 y 16 voluntarios adultos a los cuales se les suministró una dosis diaria de 4, 8 y 20 mg diarios de astaxantina durante 4 semanas no mostró alteraciones significativas en las constantes bioquímicas ni hematológicas estudiadas (Satoh et al., 2008).

La administración de 5 a 12 mg de astaxantina durante 4 semanas o 6 mg durante 8 semanas a voluntarios sanos es bien tolerada y no produce signos clínicos referenciables (EFSA, 2005).

No obstante lo anterior, según indica AFSSA (2008) la evaluación de signos de carcinogenicidad debe realizarse en modelos que tengan en cuenta la exposición ambiental que favorecería el efecto prooxidante y carcinógeno de los carotenoides en general, previsiblemente más elevado en el caso de astaxantina.

Se desconocen los efectos teratogénicos de esta sustancia.

Estimado un NOAEL en ratas de 14 mg de astaxantina/kg p.c./día y considerando un factor de seguridad de 100, el límite de seguridad para el hombre sería de 140 µg/kg p.c./día, es decir, 9,8 mg/día para un adulto de 70 kg.

8.1.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y considerando que España es un país donde el consumo de productos del mar es elevado, la cantidad máxima diaria de 4 mg de astaxantina en los complementos alimenticios propuesta por la AESAN puede considerarse dentro de los límites de seguridad para un consumo a medio plazo pues, teniendo en cuenta un valor de consumo máximo de astaxantina a través de productos del mar estimado en un 1,95 mg/día, el límite superior de exposición, incluidos los complementos alimenticios, podría ser menor de 6 mg/día.

Debido a sus características químicas y para evaluar el riesgo que puede suponer su consumo a largo plazo, deben llevarse a cabo estudios de carcinogenicidad mediante modelos que incluyan la exposición a contaminantes ambientales.

Aunque los estudios en humanos no han mostrado efectos adversos, se desconoce la dosis umbral a partir de la cual puede interferir con el metabolismo de determinados medicamentos. Debido a la ausencia de estudios sobre efectos teratogénicos se recomienda que los complementos alimenticios de astaxantina no sean consumidos por mujeres embarazadas.

También debido a la falta de información científica no se aconseja su consumo por los niños y las mujeres en periodo de lactancia.

Referencias

- ACNFP (2004). The Advisory Committee on Novel Foods and Processes (ACNFP) Novel food assessments. Disponible en http://acnfp.food.gov.uk/assess/#id_299537 [acceso: 23-4-12].
- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Afssa-Saisine N° 2007-SA-0231.
- BOE (1994). Orden de 10 de octubre de 1994 por la que se modifica el anexo de la de 23 de marzo de 1988 relativa a los aditivos en la alimentación animal. BOE 249 de 28 de octubre de 1994.
- Choi, H.D., Kang, H.E., Yang, S.H., Lee, M.G. y Shin, W.G. (2011). Pharmacokinetics and first-pass metabolism of astaxanthin in rats. *British Journal of Nutrition*, 105, pp: 220-227.
- EFSA (2005). European Food safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the request from the European Commission on the safety of use of colouring agents in animal nutrition. PART I. General Principles and Astaxanthin (Question No. EFSA-Q-2003-060). *The EFSA Journal*, 291, pp: 1-40.
- EFSA (2007). European Food safety Authority Safety and efficacy of CAROPHYLL® Stay-Pink (astaxanthin dimethyl-disuccinate) as feed additive for salmon and trout. Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. (Question No EFSA-Q-2007-018). *The EFSA Journal*, 574, pp: 25.
- EFSA (2009). European Food safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to astaxanthin and maintenance of joints, tendons, and connective tissue (ID 1918, 1978, 3142), protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 1449, 3141), maintenance of visual acuity (ID 1448), maintenance of blood cholesterol concentrations and maintenance of low plasma concentrations of C-reactive protein (ID 1450) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. *The EFSA Journal*, 7 (9), pp: 1.253.
- EFSA (2011). European Food safety Authority Scientific. Opinion on the substantiation of health claims related to astaxanthin and protection of the skin from UV-induced damage (ID 1687, 1979), defence against *Helicobacter pylori* (ID 1686), contribution to normal spermatogenesis (ID 1688), contribution to normal muscle function (ID 1685), and

- "immune system" (ID 1689, 1919, 1980) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. *The EFSA Journal*, 9 (6), pp: 2.206.
- Guerin, M., Mark, E.H. y Olaizol, M. (2003). Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends in Biotechnology*, 21, pp: 210-216.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiologico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 25-11-12].
- Kidd, P. (2011). Astaxanthin, Cell Membrane Nutrient with Diverse Clinical Benefits and Anti-Aging Potential. *Alternative Medicine Review*, 16, pp: 355-364.
- Kistler, A., Liechti, H., Pichard, L., Wolz, E., Oesterheld, G., Hayes, A. y Maurel, P. (2002). Metabolism and CYP-inducer properties of astaxanthin in man and primary human hepatocytes. *Archives Toxicology*, 75, pp: 665-675.
- Miyazawa, T., Nakagawa, K., Kimura, F., Satoh, A. y Miyazawa, T. (2011). Plasma carotenoid before and after supplementation with astaxanthin in middle-aged and senior subjects. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 75, pp: 1.856-1.858.
- Ohno, M., Darwish, W.S., Ikenaka, Y., Miki, W. y Ishizuka, M. (2011). Astaxanthin can alter CYP1A-dependent activities via two different mechanisms: induction of protein expression and inhibition of NADPH P450 reductase dependent electron transfer. *Food Chemical Toxicology*, 49, pp: 1.285-1.291.
- Petri, D. y Lundebye, A.K. (2007). Tissue distribution of astaxanthin in rats following exposure to graded levels in the feed. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology*, 145, pp: 202-209.
- Satoh, A., Tsuji, T., Okada, O., Murakami, N., Urami, M., Nakagawa, K., Ishikura, M., Katagiri, M., Koga, Y. y Shirasawa, T. (2008). Preliminary clinical evaluation of toxicology and efficacy of a new astaxanthin-rich *Haematococcus pluvialis* extract. *Journal Biochemical Nutrition*, 44, pp: 280-284.
- Spiller, G.A. y Dewell, A. (2003). Safety of an astaxanthin-rich *Haematococcus pluvialis* algal extract: a randomized clinical trial. *Journal of Medicinal Food*, 6, pp: 51-56.
- Stewart, J.S., Lignell, A., Pettersson, A., Elfving, E. y Soni, M.G. (2008). Safety assessment of astaxanthin-rich microalgae biomass: Acute and subchronic toxicity studies in rats. *Food Chemical Toxicology*, 46, pp: 3.030-3.036.
- UE (1997). Reglamento (CE) N° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de enero de 1997, sobre nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios. DO L 43 de 14 de febrero de 1997, pp: 1-10.
- UE (2006). Reglamento (CE) N° 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. DO L 404 de 30 de diciembre de 2006, pp: 9-25.
- UE (2008). Reglamento (CE) N° 393/2008 de la Comisión, de 30 de abril de 2008, relativo a la autorización del dimetildisuccinato de astaxantina como aditivo para la alimentación animal. DO L 117 de 1 de mayo de 2008, pp: 3.246.220-3.246.221.

8.2 Licopeno

8.2.1 Propuesta

La AESAN propone una cantidad máxima diaria de licopeno de 15 mg. Dicha propuesta se basa en las decisiones de autorización del uso de licopeno como nuevo alimento (Reglamento CE N° 258/1997 (UE, 1997)) con una dosis máxima diaria de licopeno de 15 mg (UE, 2009a, 2009b).

Esta concentración está en consonancia con las autorizaciones de otros países de la Unión Europea. En Dinamarca el licopeno está autorizado en complementos alimenticios con una cantidad total máxima que no debe superar los 15 mg por dosis diaria recomendada (Dinamarca, 2011). En Italia se autoriza en complementos alimenticios también con una cantidad máxima diaria de 15 mg/día (Italia, 2012).

8.2.2 Características y fuentes

El licopeno es un colorante natural perteneciente al grupo de los carotenoides. Posee una estructura acíclica con una cadena alifática que incluye 13 dobles enlaces, de los cuales 11 son conjugados. Su fórmula química es $C_{40}H_{56}$ y su peso molecular es de 536,85 daltons.

Las denominaciones químicas del licopeno son ψ , ψ -caroteno; licopeno todo *trans*; licopeno (todo E) y (todo E)-2, 6, 10, 14, 19, 23, 27, 31-octametil-2, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 30-dotriacontatridecaeno (BOE, 2011).

Al igual que otros carotenoides el licopeno se encuentra en varias configuraciones geométricas. En las matrices naturales la forma mayoritaria es la *trans*, que es la conformación termodinámicamente más estable, aunque también se encuentran en menor proporción las formas 5-*cis*-, 9-*cis*- y 13-*cis*-. Los preparados destinados a su uso en alimentación se presentan en forma de suspensiones en aceites comestibles, o polvos dispersables o solubles en agua (BOE, 2011).

El licopeno se encuentra fundamentalmente en el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. = *Solanum lycopersicum* L.), pero también en otras frutas y verduras (sandía, pomelo rosado, papaya, etc.). Se puede obtener además de forma sintética o a partir del hongo *Blakeslea trispora*.

En los tomates maduros y frescos aproximadamente el 83 % del total de carotenoides corresponde al licopeno, mayoritariamente en su forma todo *trans*. Sin embargo, cuando se expone a la luz solar o al calor puede transformarse parcialmente a la configuración *cis*. Por ello, debido al proceso térmico a que son sometidos los productos procesados del tomate, la proporción de isómeros *cis* puede aumentar considerablemente (Olempska-Beer, 2006) (Vitale et al., 2010).

El licopeno está autorizado en la Unión Europea como colorante para uso alimentario (E-160d) por la Directiva 2008/128/CE (UE, 2008) ya sea obtenido por síntesis química o extraído a partir de fuentes naturales como el tomate rojo o el hongo *Blakeslea trispora*.

En España, la Orden SPI/1957/2011, publicada por el Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad, (BOE, 2011) por la que se modifica el anexo del Real Decreto 1465/2009 para adaptarlo a las disposiciones de la Unión Europea, establece las normas de identidad y pureza de los colorantes utilizados en los productos alimenticios, señalando respecto al licopeno sintético (E-160d) y al procedente de *Blakeslea trispora*:

- El licopeno sintético debe contener no menos del 96 % de licopenos totales de los cuales el 70 % en la forma todo *trans*.

- El procedente del hongo *Blakeslea trispora* debe contener no menos de un 95 % de licopenos totales de los cuales no menos del 90 % en la forma todo *trans*.

8.2.3 Nutrición y metabolismo

Se ha constatado su actividad antioxidante relacionándola con la prevención de diversos procesos patológicos en los que está implicada la oxidación celular, si bien la opinión científica de EFSA no considera suficientemente establecidas las declaraciones sobre protección frente al daño oxidativo del ADN, proteínas y lípidos, en piel (daño inducido por UV), mantenimiento de la función cardíaca y de la visión normal (EFSA, 2011).

El licopeno es una molécula antioxidante que reacciona con el oxígeno singlete 1O_2 , generado por la exposición fotónica de la piel. A diferencia del beta-caroteno no tiene una actividad provitamínica A, por lo que no puede considerarse precursor del ácido retinoico implicado en muchos procesos de proliferación y diferenciación celulares (AFSSA, 2008).

Puede considerarse un ingrediente habitual de la dieta humana al ser ingerido como componente del tomate y de sus productos procesados. Por esta razón, es el carotenoide que se encuentra en mayor concentración en el plasma humano.

En la biodisponibilidad del licopeno en el organismo influyen, entre otros factores, la forma de procesar los alimentos y el estado funcional del intestino (OMS, 2010) (Vitale et al., 2010).

El licopeno presente en los productos procesados sometidos a calor presenta una mayor biodisponibilidad ya que las temperaturas elevadas liberan fácilmente el licopeno presente en las matrices celulares. Por su carácter lipófilo, la absorción del licopeno es mayor cuando se ingiere junto con dietas ricas en grasa (OMS, 2010).

Se han realizado numerosos estudios en animales (ratas, ratones, perros, monos, terneros) y en humanos para conocer sus características farmacocinéticas (absorción, distribución y excreción).

En el hombre, el licopeno, como todos los carotenoides, debido a su carácter lipófilo, sigue el mismo proceso de digestión y absorción intestinal que las grasas. Una vez liberado de su matriz en el alimento y disuelto en medio oleoso, se incorpora a las micelas lipídicas en el intestino delgado. Se transporta en el plasma por las proteínas de baja densidad y se acumula en los tejidos ricos en receptores de las proteínas de baja densidad. El órgano diana es el hígado pero también se acumula en el pulmón, las glándulas adrenales, tejido adiposo, próstata, ovarios y útero. También el plasma sanguíneo puede contener concentraciones detectables de licopeno (OMS, 2010).

En el plasma los isómeros más abundantes son la forma todo *trans* y el licopeno 5-*cis* que puede llegar a representar más del 50 % del total. Se desconoce si la mayor presencia de la forma *cis* en el plasma se debe a su mayor biodisponibilidad o a un mayor catabolismo de la forma *trans*. Se especula que la forma *cis* es probablemente más biodisponible que la todo *trans* debido a su configuración estructural, su mayor solubilidad en las micelas y su menor capacidad de agregación (OMS, 2010). Tiene una vida media en el plasma de entre 4 y 6 horas.

Los metabolitos más importantes del licopeno son el 1,2 y 5,6-epóxido. La excreción se realiza mayoritariamente por las heces y en menor proporción por la orina y los pulmones.

Según datos recogidos de las diferentes encuestas de consumo realizadas en Europa la ingesta media de licopeno a partir de fuentes naturales es de entre 0,5 y 5 mg/día. Los grandes consumidores de

frutas y verduras y especialmente productos derivados del tomate, pueden llegar en ocasiones a ingerir cantidades superiores a 20 mg licopeno/día (EFSA, 2008a). Sin embargo, considerando todas las fuentes, incluyendo el utilizado como aditivo en los alimentos, la ingesta diaria de licopeno, según EFSA, podría llegar a ser de hasta 43 mg/día (EFSA, 2008b) y de 420 a 500 µg/kg p.c./día en niños, en el nivel máximo de exposición, lo que superaría en un 44-55 % la IDA (Ingesta Diaria Admisible) calculada (EFSA, 2010). Por otra parte la OMS, basándose en datos procedentes de ocho países, estima que la exposición diaria a licopeno procedente del tomate o de sus derivados es de 10 mg/día y de entre 10 y 50 mg/día a partir de todas las fuentes (OMS, 2010).

8.2.4 Seguridad

La toxicidad del licopeno, procedente del extracto del tomate, ha sido ampliamente estudiada tanto en animales como en humanos.

Estudios en animales

Se han realizado estudios de toxicidad aguda, crónica y subcrónica por vía oral en diferentes especies animales. Estudios de toxicidad sobre la reproducción mediante ensayos multigeneracionales y del desarrollo, así como ensayos de carcinogenicidad y mutagenicidad.

El licopeno no presenta toxicidad aguda y los estudios de toxicidad subcrónica por vía oral en ensayos a 98 y 90 días no han mostrado efectos tóxicos a las concentraciones ensayadas más elevadas (500 y 586 mg/kg p.c./día, respectivamente). Como efecto secundario se observó una coloración amarilla anaranjada del hígado (AFSSA, 2008).

En un ensayo con ratas, de 52 semanas de duración, a la dosis más elevada ensayada, se observó, al finalizar el tratamiento en las hembras, una pigmentación en el hígado asociada con alteraciones histopatológicas de focos basófilos. Sin embargo, no aparecieron alteraciones estructurales ni signos de disfunción hepática por lo que se desconoce el significado de estas alteraciones, aunque se piensa que probablemente sean debidas a una acumulación intracelular del licopeno (OMS, 2010).

Los estudios de carcinogenicidad no han sugerido la presencia de efectos negativos con la administración de licopeno.

Los diferentes test de mutagenicidad realizados (aberraciones cromosómicas en células de mamíferos, tests del micronúcleo en eritrocitos de mamíferos, mutación génica y síntesis no programada de DNA) han dado resultados negativos (OMS, 2010).

Los valores de NOAEL más relevantes obtenidos a partir de los diferentes ensayos toxicológicos son (OMS, 2010):

- 586 mg/kg p.c./día en un estudio de toxicidad a 90 días en ratas. Dosis más alta ensayada.
- 250 mg/kg p.c./día en un estudio de toxicidad a 1 año en ratas.
- 50 mg/kg p.c./día en un estudio de toxicidad y genotoxicidad a 2 años en ratas.
- 500 mg/kg p.c./día en un estudio de toxicidad multigeneracional en ratas. Dosis más alta ensayada.
- 500 mg/kg p.c./día en un estudio de toxicidad en el desarrollo en ratas. Dosis más alta ensayada.
- 400 mg/kg p.c./día en un estudio de toxicidad en el desarrollo en conejo. Dosis más alta ensayada.

Estudios en humanos

De las pruebas realizadas en humanos, aunque han estado enfocadas a investigar la capacidad antioxidante del licopeno y no a la seguridad, se puede concluir que en general, la administración de licopeno en la dieta es bien tolerada. Los efectos adversos tras varias semanas de tratamiento con licopeno se han limitado a pequeños trastornos gastrointestinales y problemas de coloración en la piel (OMS, 2010).

Se han comunicado además algunos casos de licopenodermia en la bibliografía científica. Esta descrito el caso de una mujer que consumió durante varios años dos litros diarios de zumo de tomate (equivalente a 160 mg o 2,3 mg/kg p.c./día de licopeno). Sufrió dolores abdominales asociados con náuseas, vómitos y diarreas y presentó coloración amarillo-anaranjado en la piel de las manos, antebrazos y planta de los pies. La investigación clínica reveló una concentración elevada de licopeno en el suero y en hígado (Reich et al., 1960). Los mismos efectos fueron detectados en una mujer que consumió salsa de tomate durante 3 años. Los síntomas remitieron cuando se restringió el tomate de la dieta.

En función de todos los datos disponibles, EFSA, a través del Panel de aditivos alimentarios, saborizantes, coadyuvantes tecnológicos y materiales en contacto con alimentos, ha establecido una IDA de 0,5 mg/kg p.c./día para el licopeno a partir de todas sus fuentes, incluido el procedente del tomate (EFSA, 2008b). La OMS sin embargo considera que el licopeno presenta una baja toxicidad y, por tanto, no es necesario establecer una IDA.

8.2.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en la introducción del presente informe, la propuesta de una cantidad máxima diaria de licopeno de 15 mg presentada por la AESAN es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un Project d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et des plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Afssa. Saisine No 2007-SA-0231.
- BOE (2011). Orden SPI/1957/2011 de 7 de julio, por la que se modifica el Anexo del Real Decreto 1465/2009, de 18 de septiembre, por el que se establecen las normas de identidad y pureza de los colorantes utilizados en los productos alimenticios. Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. BOE 169 de 5 de julio de 2011, pp: 78.870-78.873.
- Dinamarca (2011). Lovtidende A. Bekendtgørelse om tilsætning af visse andre stoffer end vitaminer og mineraler til fodevarer. Udgivet den 13 august 2011, Nr 888, 12 august 2011.
- EFSA (2008a). European Food Safety Authority. Safety of lycopene oleoresin from tomatoes. Scientific Opinion of the Panel on Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. (Question No EFSA-Q-2006-186). *The EFSA Journal*, 675, pp: 22.
- EFSA (2008b). European Food Safety Authority. Use of lycopene as a food colour. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food. (Questions No EFSA Q-2007-001, Q-2007-081, Q-2008-076) *The EFSA Journal*, 674, pp: 66.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Revised exposure assessment for lycopene as a food colour. *The EFSA Journal*, 8 (1), pp: 1.444.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to lycopene.

- pene and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 1608, 1609, 1611, 1662, 1663, 1664, 1899, 1942, 2081, 2082, 2142, 2374), protection of the skin from UV-induced (including photo-oxidative) damage (ID 1259, 1607, 1665, 2143, 2262, 2373), contribution to normal cardiac function (ID 1610, 2372), and maintenance of normal vision (ID 1827) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9 (4), pp: 2.031.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiologico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 25-11-12].
- Olempska-Ber, Z. (2006). Lycopene (synthetic) chemical and technical assessment Lycopene (synthetic) (CTA), pp: 1-6 Disponible en: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agms/pdf/jecfa/cta/67/lycopene.pdf> [acceso: 9-08-12].
- OMS (2010). Organización Mundial de la Salud. Safety evaluation of certain food additives. Seventy-first meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Food Additives Series: 62. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241660624_eng.pdf [acceso: 9-08-12].
- Reich, P., Schwachman, H. y Craig, J.M. (1960). Lycopopenia: a variant of carotenemia. *New England Journal of Medicine*, 262, pp: 263-269.
- UE (1997). Reglamento (CE) N° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de enero de 1997, sobre nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios. DO L 43 de 14 de febrero de 1997, pp: 1-10.
- UE (2008). Directiva 2008/128/CE de la Comisión, de 22 de diciembre de 2008, por la que se establecen criterios específicos de pureza en relación con los colorantes utilizados en los productos alimenticios. DO L 6 de 10 de enero de 2009, pp: 20-63.
- UE (2009a). Decisión de la Comisión, de 28 de abril de 2009, por la que se autoriza la comercialización de oleoresina de licopeno de tomates como nuevo ingrediente alimentario con arreglo al Reglamento (CE) N° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo. DO L 109 de 30 de abril de 2009, pp: 47-51.
- UE (2009b). Decisión de la Comisión, de 28 de abril de 2009, por la que se autoriza la comercialización de licopeno de *Blakeslea trispora* como nuevo ingrediente alimentario con arreglo al Reglamento (CE) N° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo. DO L 111 de 5 de mayo de 2009, pp: 31-34.
- Vitale, A.A., Bernatene, E.A. y Pomilio, A.B. (2010). Carotenoides en quimioprevención: Licopeno Carotenoids in chemoprevention: Lycopene. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 44, pp: 195-238.

8.3 Todo trans luteína/zeaxantina

8.3.1 Propuesta

La AESAN propone una cantidad máxima diaria de *trans* luteína sola o asociada a zeaxantina de 20 mg como complemento alimenticio.

Dicha propuesta se basa en las decisiones de autorización como complemento en otros países de la Unión Europea. Así en Francia se admite esta misma cantidad, estableciendo como límite máximo 20 mg/día (AFSSA, 2008), en Dinamarca la cantidad total máxima que se puede utilizar como complemento alimenticio no debe sobrepasar los 20 mg/día (Dinamarca, 2011) y en Italia la luteína/zeaxantina están autorizadas en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2012).

8.3.2 Características y fuentes

La luteína (3R,3'R,6'R)-β,ε-caroteno-3,3'-diol) y su estereoisómero zeaxantina (todo *trans*-(3R,3'R)-β-caroteno-3,3'-diol) son carotenoides sin acción provitáminica A, incluidos en el grupo de los pigmentos vegetales del tipo de las xantofilas, responsables de los colores amarillo-anaranjados de flores y frutos. Se encuentran en numerosos vegetales como maíz, alfalfa, verduras de hoja verde (espinacas, col, brócoli, coles de Bruselas) y frutas como kiwi y melón. En las hojas verdes de los vegetales y en los frutos se encuentra en sus formas no esterificadas, mientras que en otras plantas son frecuentes las formas de mono- o diésteres de ácidos grasos (palmitatos y miristatos). Su fórmula química es $C_{40}H_{56}O_2$ y el peso molecular 568,88 g/mol.

La presencia en su estructura de tres centros quirales implica la posibilidad de ocho estereoisómeros. En la naturaleza los isómeros mayoritarios son el todo *trans* y el *cis-trans*, en forma de dipalmitatos. Durante el procesado, pueden producirse transformaciones isoméricas (Khoo et al., 2011).

Una de sus principales fuentes de obtención industrial son los pétalos de las flores de tagete, planta ornamental que corresponde a la especie botánica *Tagetes erecta* L. (= *T. patula* L.; = *T. remotiflora* Junze) de la familia Asteraceae.

La luteína, mezcla de luteína y zeaxantina procedente de *T. erecta*, está autorizada en la Unión Europea como colorante de uso alimentario (E-161b) (UE, 2009) y revaluada en dos ocasiones por el grupo de expertos en aditivos alimentarios y fuentes de nutrientes añadidos a los alimentos (EFSA, 2010, 2012).

En el Reglamento (UE) Nº 231/2012, la luteína (E-161b) figura como un "líquido oscuro de color marrón amarillento", "mezcla de carotenoides, xantofilas", obtenido "por extracción con disolventes" ("metanol, etanol, propan-2-ol, hexano, acetona, metiletilcetona, y dióxido de carbono") "de las cepas de plantas y frutos comestibles, así como hierba, alfalfa y *Tagetes erecta*. El principal colorante consiste en carotenoides, cuya mayor parte está formada por luteína y sus ésteres de ácidos grasos. Pueden estar presentes cantidades variables de carotenos. La luteína puede contener grasas, aceites y ceras presentes de forma natural en los materiales vegetales". Se indica en el Reglamento que el contenido total de colorantes no debe ser inferior al 4 % expresado como luteína. Sin embargo, no se especifican las cantidades máximas de luteína-zeaxantina que pueden contener los preparados identificados como E-161b (UE, 2012).

En *Tagetes erecta* el 70-90 % de las materias colorantes corresponden a luteína y el 10-25 % a zeaxantina. En otras especies vegetales diferentes de *T. erecta*, la relación entre luteína y zeaxantina se invierte,

como ocurre en el caso del maíz en el que la mayor parte de las materias colorantes corresponden a zeaxantina.

En la actualidad se comercializan en la Unión Europea diferentes preparados para uso alimentario, elaborados a partir de extractos saponificados de *T. erecta* que difieren entre sí por la concentración de carotenoides totales y por la distinta relación entre luteína y zeaxantina. De ellos, solamente tres han sido evaluados por EFSA (2011).

- Luteína con ≥ 80 % de carotenoides que consisten en luteína (79 %) y zeaxantina (5 %).
- Luteína con contenidos de carotenoides de ~ 5 -12 %.
- Luteína de *T. erecta* con elevadas concentraciones (>60 %) de carotenoides totales en forma de ésteres (>93 % ésteres de luteína y resto de ésteres de zeaxantina).

A petición de la Comisión Europea, la Comisión Técnica de Productos Dietéticos, Nutrición y Alergias emitió un dictamen científico sobre la seguridad, biodisponibilidad e idoneidad de un preparado purificado de luteína obtenido por saponificación de la oleoresina obtenida de un extracto en hexano de flores de *Tagetes erecta* para su utilización en alimentación especial de lactantes y niños pequeños. El preparado (*FloraGLO*[®]) contiene al menos un 20 % de luteína y un 0,8 % de zeaxantina, suspendidas en aceite de girasol. El dictamen fue favorable en cuanto a biodisponibilidad y seguridad (250 $\mu\text{g/l}$ de luteína añadida en preparados con bajo contenido natural de luteína de aproximadamente 20 $\mu\text{g/l}$ o menor) pero no en cuanto a su valor nutricional o dietético (EFSA, 2008).

La zeaxantina se obtiene por síntesis química, predominantemente el isómero todo *trans* (no menos del 96 %). Se comercializa en forma de "perlas" de polvos desecados, con gelatina o almidón, que contienen un 5 % de zeaxantina y alfa-tocoferol y palmitato de ascorbilo como antioxidantes; y en forma de suspensión en aceite de maíz con una riqueza del 20 % en zeaxantina y alfa-tocoferol como antioxidante (AFSSA, 2010).

8.3.3 Nutrición y metabolismo

La luteína libre o esterificada es absorbida en el intestino delgado, la zeaxantina predominantemente en el íleon. Sin embargo, como ocurre con el resto de carotenoides, su absorción puede verse modificada por factores nutricionales o por factores fisiológicos (Evans et al., 2012). Aunque el grado de esterificación no parece influir directamente en la biodisponibilidad (EFSA, 2011), si puede alterar la absorción en la medida en que afecta a su liberación desde la matriz alimentaria y a su captación micelar. Por tanto, la absorción de luteína dependerá de su formulación (Evans et al., 2012) y de la cantidad de grasa, fibra u otros carotenoides, presentes en la dieta.

En los enterocitos, los ésteres son hidrolizados por enzimas gastrointestinales. La luteína libre, incluida en quilomicrones, es transportada por vía linfática al hígado, distribuyéndose hacia los tejidos (especialmente a la retina) por la circulación sanguínea a los tejidos unida a lipoproteínas, preferentemente a proteínas de alta densidad (Kijlstra et al., 2012).

La metabolización se caracteriza por una oxidación de los grupos hidroxilos seguida de reducción y epimerización (3'-epiluteína). En el hombre se observa una interconversión entre ambas xantofilas, siendo el compuesto intermedio 3'-epiluteína, que también puede identificarse en el plasma humano (EFSA, 2009).

De la cantidad ingerida por vía oral, aproximadamente un 45 % se elimina por heces y un 10 % por orina.

Entre sus funciones fisiológicas figura la de contribuir a la densidad del pigmento macular y probablemente participar en la protección de la retina frente al daño inducido por la luz UV. En alimentación animal la luteína se utiliza para intensificar el color amarillo de la yema de los huevos (EFSA, 2009).

Las estimaciones de ingesta de luteína y zeaxantina no hacen distinción entre ellas debido a cuestiones de orden analítico.

La ingesta dietética media de luteína procedente de fuentes naturales se estima en 2,5 mg/día tanto para adultos como para niños, equivalente a 0,04 y 0,1 mg/kg p.c./día, respectivamente. En el percentil 95 la estimación alcanza los 7 mg/día para ambos grupos equivalente a 0,12 mg/kg p.c./día para adultos y 0,28 mg/kg p.c./día para niños (EFSA, 2012).

La ingesta de luteína como colorante alimenticio (E-161b) fue estimada por el Panel ANS (*Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food*) de EFSA en el año 2011 y reconsiderada en el año 2012 en base a la información aportada por la industria alimentaria, reduciendo considerablemente los niveles máximos de consumo, principalmente los relativos a bebidas no alcohólicas, salsas y postres, incluidos los lácteos con sabores. Se utilizaron para la estimación los datos de consumo del Reino Unido por ser, dentro de la Unión Europea, los mayores consumidores de refrescos.

Tabla 2. Ingesta estimada de *trans* luteína incluida zeaxantina como colorante (E-161b) en mg/kg p.c./día

	Adultos (RU) ¹ (>18 años)	Niños (RU) (1,5-4,5 años)	Niños (EXPOCHI) ² (1-10 años)
Niveles máximos permitidos			
Exposición media	0,8	3,0	0,5-3,4
Percentil 95-97,5	3,2	7,2	0,2-2,2
Niveles máximos de ingesta			
Exposición media	0,1	0,4	0,1-0,4
Percentil 95-97,5	0,3	1,0	0,1-1,0

¹RU: UNESDA, NATCOL (*Natural Food Colours Association*) ²EXPOCHI (*Individual food consumption data and exposure assessment studies for children*). **Fuente:** (EFSA, 2012).

En el año 2006, JECFA (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios) estimó una IDA para la luteína extraída de *Tagetes erecta* y para la zeaxantina sintética de 0-2 mg/kg p.c./día (JECFA, 2006). Sin embargo, en el año 2008, EFSA estimó que los estudios toxicológicos disponibles no permitían establecer una IDA para la zeaxantina sintética sola. En el año 2010, tomando como base nuevos estudios de toxicidad, EFSA reconsideró la posición de JECFA y estimó una IDA de 1 mg/kg p.c./día para la luteína extraída de *Tagetes erecta* con un contenido mínimo de carotenoides de 80 %, repartidos entre luteína y zeaxantina.

Por tanto, tomadas en conjunto las fuentes de exposición a luteína natural y como colorante alimentario, en ningún caso se superan los valores medios de IDA de 1 mg/kg p.c./día propuestos por EFSA para esta sustancia en adultos, si bien en niños, aunque los valores medios de exposición no alcanzan dicha

cantidad en la mayoría de los países de la Unión Europea, en los percentiles 95-97 % puede superarse en algunos casos, como ocurre en los Países Bajos y el Reino Unido (EFSA, 2010, 2011).

8.3.4 Seguridad

La toxicidad de la luteína, procedente de extractos de *Tagetes erecta* ha sido ampliamente estudiada tanto en animales como en humanos. En el año 2006, JEFCA evaluó la seguridad de preparaciones de *Tagetes erecta* L. con elevados contenidos de luteína (>80 %) y de zeaxantina sintética, para su utilización como colorantes de alimentos y complementos nutricionales. Teniendo en cuenta sus similitudes estructurales y fisiológicas y la ausencia de efectos tóxicos ampliamente documentada para luteína de *T. erecta*, JEFCA (2006) estableció una IDA de 0-2 mg/kg p.c./día para ambas sustancias.

Posteriormente, EFSA (2011) sometió a reevaluación esta cifra, considerando los resultados de un estudio a 90 días realizado en ratas, teniendo en cuenta un valor de NOAEL de 200 mg/kg p.c./día (dosis más elevada ensayada), ausencia de toxicidad para el desarrollo a dosis superiores a 1.000 mg/kg p.c./día (dosis más elevada probada), la no observación de efectos sobre los órganos reproductores, ausencia de efectos genotóxicos (EFSA, 2006) y el hecho de que es una sustancia que se encuentra de forma natural en la dieta humana. Aplicando un factor de incertidumbre de 200 por no disponer de estudios multigeneracionales de toxicidad sobre la reproducción ni estudios sobre toxicidad crónica/carcinogenicidad, se estableció un IDA de 1 mg/kg p.c./día para luteína procedente de *T. erecta* con un contenido en carotenoides >80 % (79 % luteína, 5 % zeaxantina).

Los estudios de toxicidad realizados sobre otro preparado de luteína, luteína con ≥ 60 % de ésteres de carotenoides (>93 % de luteína y resto de zeaxantina) han permitido establecer un NOAEL de 1.000 mg/kg p.c./día, dosis más elevada y equivalente a 538 mg/kg p.c./día de equivalentes de luteína, muy superior al NOAEL de 200 mg/kg p.c./día que permitió establecer una IDA de 1 mg/kg p.c./día. Razón por la que EFSA (2011) considera ese valor de IDA aceptable para ese preparado. Por el contrario concluye que no es aceptable su aplicación a otros preparados de menor pureza o procedentes de otras fuentes.

En los últimos años se han notificado algunos casos de toxidermia atribuible a la utilización de preparados de luteína-zeaxantina de *T. erecta* como complementos alimenticios. ANSES (2011) relacionó estos casos con la posible presencia en los preparados de tiofenos o de lactonas sesquiterpénicas procedentes de otras plantas de la familia Asteraceas. Por ello, es importante que los preparados destinados a ser empleados como complementos de la dieta se ajusten a las especificaciones establecidas en las evaluaciones de seguridad realizadas por EFSA.

8.3.5 Conclusión

Aunque existen otras fuentes de obtención de luteína, hasta el momento, los estudios de seguridad se han realizado con *trans*-luteína asociada a *trans*-zeaxantina procedentes de *Tagetes erecta*, evidenciándose algún problema de seguridad cuando se utilizan otras fuentes.

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de una cantidad máxima diaria de 20 mg de *trans*-luteína, asociada a *trans*-zeaxantina, es aceptable desde el punto de

vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio. Si bien conviene recordar que esta estimación solo está referida a su consumo como complementos por adultos.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un Project d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et des plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Afssa. Saisine no 2007-SA-0231.
- AFSSA (2010). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation de la demande de l'emploi de zéaxanthine dans les compléments alimentaires à la dose de 2 mg par jour. AFSSA-saisine N° 2009-SA-0287.
- ANSES (2011). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif au risque de toxidermie induit par la consommation de lutéine et de zéaxanthine dans les compléments alimentaires. Anses-Saisine N° 2010-SA-0242.
- Dinamarca (2011). Lovtidende A. Bekendtgørelse om tilsætning af visse andre stoffer end vitaminer og mineraler til fodevarer. Udgivet den 13 august 2011, Nr 888, 12 august 2011.
- EFSA (2006). European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to Lutein for use in foods for particular nutritional uses. (Question No. EFSA Q-2003-128). *The EFSA Journal*, 315, pp: 12.
- EFSA (2008). European Food Safety Authority. Safety, bioavailability and suitability of lutein for the particular nutritional use by infants and young children. Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. (Question No EFSA-Q-2007-095). *The EFSA Journal*, 823, pp: 24.
- EFSA (2009). European Food Safety Authority. Safety of use of colouring agents in animal nutrition. Part III: β -apo-8'-carotenal, ethyl ester of β -apo-8'-carotenoic acid, lutein, zeaxanthin and concluding remarks. Scientific opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. *The EFSA Journal*, 1098, pp: 48.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to lutein and maintenance of vision (ID 1603, 1604, 1931) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 8 (2), pp: 1.492.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Scientific Opinion of the Re-evaluation of lutein preparations other than lutein with high concentrations of total saponified carotenoids at levels of at least 80%. Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). *The EFSA Journal*, 9 (5), pp: 2.144.
- EFSA (2012). European Food Safety Authority. Scientific opinion of the Statement on the safety assessment of the exposure to lutein preparations based on new data on the use levels of lutein. Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). *The EFSA Journal*, 10 (3), pp: 2.589.
- Evans, M., Beck, M., Elliott, J., Etheve, S., Roberts, R. y Schalch, W. (2012). Effects of formulation on the bioavailability of lutein and zeaxanthin: a randomized, double-blind, cross-over, comparative, single-dose study in healthy subjects. *European Journal of Nutrition*, Sep 30. DOI 10.1007/S00394-012-0447-9.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiologico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineArea_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 25-11-12].
- JECFA (2006). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Safety evaluation of certain food additives prepared by the Sixty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert committee on Food Additives (JECFA) Lutein from *Tagetes erecta* L. WHO Food Additives Series 54, 49-86. Disponible en <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v54je01.pdf> [acceso: 5-11-12].
- Khoo, H.E., Prasad, K.N., Kong, K.W., Jiang, Y.M. e Ismail, A. (2011). Carotenoids and their isomers: color pigments in fruits and vegetables. *Molecules*, 16, pp: 1.710-1.738.
- Kijlstra, A., Tian, Y., Elton, R.K. y Berendschot, T. (2012). Lutein: More than just a filter for blue light. *Progress in Retinal and Eye research*, 31, pp: 303-315.

UE (2009). Directiva 2008/128/CE de la Comisión, de 22 de diciembre de 2008, por la que se establecen criterios específicos de pureza en relación con los colorantes utilizados en los productos alimenticios. DO L 6 de 10 de enero de 2009, pp: 20-63.

UE (2012). Reglamento (UE) N° 231/2012 de la Comisión, de 9 de marzo de 2012, por el que se establecen especificaciones para los aditivos alimentarios que figuran en los anexos II y III del Reglamento (CE) N° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo. DO L 83 de 22 de marzo de 2012, pp: 1-295.

8.4 Quercetina

8.4.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de quercetina de 75 mg con la advertencia “no recomendado en mujeres embarazadas”. Dicha propuesta se basa en la existencia de una evaluación favorable en Francia considerando 75 mg/día (AFSSA, 2008).

En Italia, la quercetina está autorizada en complementos alimenticios en una cantidad máxima diaria 300 mg (Italia, 2012).

8.4.2 Características y fuentes

La quercetina es un flavonoide del grupo de los flavonoles (2-(3,4-dihidroxifenil)-3, 5, 7-trihidroxi-4H-cromon-4-ona) que se encuentra en la naturaleza tanto en forma libre como combinada en forma heterosídica (O-β glicósidos). Está ampliamente distribuida, principalmente en las partes aéreas de muchas especies vegetales. Es componente intrínseco de numerosos alimentos como judías verdes, habas, manzanas, albaricoques, cerezas, uvas, arándanos, cebollas, en las hojas de té, frutos de cacao y en el vino tinto.

Se obtiene por hidrólisis de los glicósidos procedentes de fuentes vegetales y posterior purificación.

8.4.3 Nutrición y metabolismo

Tras la ingestión oral de los flavonoides, las formas glicosiladas son hidrolizadas por la microflora del colon aunque algunos de ellos también pueden hidrolizarse en el intestino delgado, y las geninas penetrar en las células epiteliales por difusión pasiva. Alternativamente, las formas glicosiladas también pueden absorberse mediante un transportador de hidratos de carbono (SGLT-1) hidrolizarse por la enzima beta-glucosidasa citosólica y sufrir una conjugación posterior con ácido glucurónico.

La quercetina, una vez absorbida, puede sufrir un proceso de O-metilación, principalmente 3'-O-metilquercetina (isoramnetina) y en menor medida 4'-O-metilquercetina o conjugarse con ácido glucurónico o grupos sulfato. Estos derivados de quercetina e incluso la quercetina inalterada, en muy baja proporción, se metabolizan en el hígado y se eliminan por vía renal y en menor medida por vía biliar. Alternativamente pueden ser degradados por la microbiota del colon a ácidos fenólicos y CO₂, siendo en ese caso eliminados por heces junto a la quercetina no absorbida.

Se considera que aproximadamente la mitad (52 %) de la quercetina ingerida se absorbe (Hollman et al., 1999). Sin embargo, tanto su absorción como las concentraciones plasmáticas máximas y la cinética de eliminación pueden variar dependiendo de la matriz alimentaria en la que se encuentre incluida. El consumo medio de quercetina procedente de la dieta se estima en un intervalo de 5 a 40 mg/día, sin embargo, en grandes consumidores de frutas y verduras, especialmente en el caso de individuos que consumen frutas y otros vegetales ricos en quercetina, incluida la piel, como tomates, manzanas y cebollas, la estimación de consumo diario puede alcanzar los 200 a 500 mg/día (Harwood et al., 2007).

En poblaciones que consumen té en abundancia, como ocurre por ejemplo en los Países Bajos, se estima un consumo diario de 16 mg de quercetina. En Escocia se estima un consumo medio diario de 18 mg, en Estados Unidos de 12 a 14 mg y en Alemania de 10 mg (AFSSA, 2008).

En Estados Unidos se autoriza su empleo como complemento alimenticio a una dosis recomendada de 200 a 1.200 mg/día (PDRNS, 2001). Desde el año 2004, las quercetinas de elevada pureza (≥98,5 %)

comercializadas como QU 985, QU 995, QU 998 y QU 1.000, han adquirido la consideración de GRAS para su utilización como ingredientes de diferentes alimentos, con un nivel de utilización de 0,008-0,5 % o de 10-125 mg/ración.

De forma global y teniendo en cuenta su presencia en muy diferentes tipos de alimentos puede estimarse un consumo medio de 4,7 mg de quercetina/kg p.c./día (226 mg/día) en el percentil 90.

8.4.4 Seguridad

En el año 1977, JECFA no pudo pronunciarse acerca de la seguridad de este compuesto debido a la ausencia de estudios toxicológicos suficientes (JECFA, 1977). Sin embargo, posteriormente la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC, 1999) clasificó este flavonoide en el grupo de las sustancias sin efecto carcinógeno para el hombre (Grupo 3) aunque sí lo relacionó con algunos casos de carcinogenicidad en animales, efectos tóxicos que se han observado cuando se emplean cantidades elevadas de este flavonoide (Kylesova, 2011).

En la monografía dedicada a la quercetina se refiere que la administración de este compuesto incrementó la incidencia de tumores intestinales y de vejiga urinaria en un estudio realizado en ratas, resultados que no pudieron ser confirmados en estudios posteriores. Igualmente indica que, en ratas macho la quercetina puede producir un incremento, bajo pero significativo, de la incidencia de adenomas en los túbulos renales (JECFA, 1977).

En ensayos *in vitro* se ha apreciado un efecto mutagénico en el test de Ames y en linfocitos humanos. Sin embargo, son numerosos los ensayos realizados *in vivo*, con diferentes especies animales, en los que no se aprecia este efecto.

Como ocurre con otros compuestos con potente actividad antioxidante es necesario considerar que, en determinadas condiciones de uso, la quercetina puede inducir un efecto prooxidante, ampliamente referenciado en la literatura científica. Esta actividad, solo demostrada *in vitro*, se atribuye a su capacidad para autooxidarse o sufrir una transformación enzimática, originando derivados quinónicos (orto-semiquinona y orto-quinona/metiluros de o-quinona) de elevada afinidad por grupos tioles de las proteínas (Moalin et al., 2012).

Parece probable que parte de la actividad mutagénica detectada *in vitro* sea consecuencia de esa actividad prooxidante que quedaría contrarrestada *in vivo* por la actuación de sistemas naturales de defensa antioxidante, por la transformación metabólica de la quercetina a derivados que no presentan esas actividades (metilación), por la baja biodisponibilidad de la genina libre o por la elevada afinidad de la quercetina y sus derivados por las proteínas séricas (albúmina), que se considera un mecanismo de detoxificación.

La quercetina tampoco ha mostrado efectos negativos sobre el desarrollo y la reproducción de los animales tratados. Sin embargo, la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC, 1999) relata la posibilidad de un retraso en el crecimiento fetal de ratas tratadas por vía oral con quercetina.

Aunque el principal objetivo de la mayoría de los ensayos clínicos realizados hasta ahora ha sido la demostración de su eficacia en la prevención y tratamiento de diferentes enfermedades en el hombre, los resultados indican una tolerabilidad muy buena y la ausencia de efectos adversos destacables en el hombre (Okamoto, 2005) (Harwood et al., 2007).

La complementación de la dieta con cantidades comprendidas entre 360 y 1.000 mg/día, durante 28 días, no ha mostrado efectos perjudiciales y tras la administración de dosis de 760 mg/día, durante 3 meses, tampoco se apreciaron efectos adversos (Kiesewetter et al., 2000). Utilizando esta concentración y tras dividir por un factor de seguridad de 10, AFSSA estimó una dosis máxima diaria en forma de complemento alimenticio de 75 mg de quercetina (AFSSA, 2008).

Recientemente, en el ensayo clínico aleatorizado, cruzado, doble ciego y controlado frente a placebo, en el que se evaluaron diferentes aspectos relacionados con la salud cardiovascular en individuos con sobrepeso (IMC: 25-35 kg/m²), se apreció que la administración de 150 mg/día de quercetina durante 6 semanas, no afectó a los biomarcadores de las funciones hepáticas y renales, ni a los parámetros hematológicos y séricos. Tampoco se evidenció efecto adverso alguno (Egert et al., 2009).

No existen estudios científicos que garanticen la seguridad de su consumo en forma de complementos por mujeres embarazadas o en periodo de lactancia, ni por niños.

8.4.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de una cantidad máxima diaria de 75 mg de quercetina presentada por la AESAN es aceptable desde un punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio, siempre que se administre de forma no concomitante con otros complementos que puedan aportar este mismo compuesto por hidrólisis, como ocurre con la rutina, lo que supondría incrementar la dosis diaria recomendada para este flavonoide.

De acuerdo con la propuesta realizada por AFSSA, y al no existir estudios científicos que garanticen su seguridad, no se recomienda su consumo por mujeres embarazadas, en periodo de lactancia, ni por niños.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un Project d'arrêté relatif a l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et des plantes et preparations de plantes dans la fabrication de complements alimentaires. Afssa. Saisine no 2007-SA-0231.
- Egert, S., Bosy-Westphal, A., Seiberl, J., Kürbitz, C., Settler, U., Plachta-Danielzik, S., Wagner, A.E., Frank, J., Schrezenmeir, J., Rimbach, G., Wolfram, S. y Müller, M.J. (2009). Quercetin reduces systolic blood pressure and plasma oxidised low-density lipoprotein concentrations in overweight subjects with a high-cardiovascular disease risk phenotype: a double-blinded, placebo-controlled cross-over study. *British Journal of Nutrition*, 102 (7), pp: 1.065-1.074.
- Harwood, M., Danielewska-Nikiel, B., Borzelleca, J.F., Flamm, G.W., Williams, G.M. y Lines, T.C. (2007). A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. *Food and Chemical Toxicology*, 45 (11), pp: 2.179-2.205.
- Hollman, P., Buysman, M.P., van Gameren, Y., Cnossen, E., de Vries, J. y Katan, M. (1999). The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radical Research*, 31, pp: 569-573.
- IARC (1999). International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol73/volume73.pdf> [acceso: 27-11-12].
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiológico impiegabili negli intregatori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineArea_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 27-11-12].
- JECFA (1977). Joint FAO/WHO Expert committee on Food Additives. Evaluation of Certain Food Additives, in: Proc.

- Of 21st JECFA Session, April, 18-27, 1977 Geneva, Swits. WHO Technical Report Series, 167. WHO, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) & Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Kiesewetter, H., Koscielny, J., Kalus, U., Vix, J.M., Peil, H., Petrini, O., van Toor, B.S. y de Mey, C. (2000). Efficacy of orally administered extract of red vine leaf AS 195 (folia vitis viniferae) in chronic venous insufficiency (stages I-II). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arzneimittelforschung*, 50 (2), pp: 109-117.
- Kylesova, Z. (2011). Toxicological aspects of the use of phenolic compounds in disease prevention. *Interdisciplinary Toxicology*, 4 (4), pp: 173-183.
- Moalin, M., van Strijdonck, G.P., Bast, A. y Haenen, G.R. (2012). Competition between ascorbate and glutathione for the oxidized form of methylated quercetin metabolites and analogues: tamarixetin, 4'-O-methylquercetin, has the lowest thiol reactivity. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 60 (36), pp: 9.292-9.297.
- Okamoto, T. (2005). Safety of quercetin for clinical application (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 16 (2), pp: 275-278.
- PDRNS (2001). Quercetin. En libro: *Physicians' Desk Reference For Nutritional Supplements, 1st Ed.* Physicians' Desk Reference (PDR), Demoines, Iowa/ Medical Economics Data Production Company, Montvale, New Jersey, pp: 390-392.

8.5 Rutina

8.5.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de rutina de 150 mg con la advertencia "no recomendado en mujeres embarazadas". Dicha propuesta se basa en la existencia de una evaluación favorable en Francia considerando que 150 mg/día de rutina aportan 75 mg/día de quercetina (AFSSA, 2008).

8.5.2 Naturaleza química y fuentes

La rutina, también llamada rutósido es un derivado de la quercetina que posee un disacárido (6-O-ramnosil-D-glucosa=rutinosa) sobre el hidroxilo situado en el carbono 3 de la estructura flavonoídica (quercetina-3-O- α -L-ramnopiranosil-(1-6)- β -D-glucopiranosido). Su peso molecular es de 610,52 daltons. Por hidrólisis ácida un gramo de rutina produce, aproximadamente, medio gramo de quercetina.

Se encuentra en baja concentración en numerosos vegetales, principalmente en frutos del género *Citrus*, cerezas y manzanas. Algunas especies son utilizadas como fuente de obtención de rutina como *Sophora japónica* en cuyos botones florales puede encontrarse en proporciones del 20 % de materia seca, ruda (*Ruta graveolens*) o el trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum* Moench) con hojas que contienen un 8 % de rutina respecto a materia seca y que constituye la mayor fuente de aporte de rutina en la dieta humana.

8.5.3 Biodisponibilidad y metabolismo

El rutósido como tal no se absorbe en el tubo digestivo. Tras la ingestión se hidroliza en el intestino parcialmente liberando heterósidos más sencillos (isoquercitrina) o la genina libre, quercetina, que una vez absorbida, sufre un proceso de metilación, conjugación y eliminación ya descrito en el apartado 8.4.3 de este documento. Los glucósidos de quercetina procedentes de la hidrólisis de la rutina son igualmente hidrolizados en el intestino delgado mediante sistemas enzimáticos de las microvellosidades o alternatively pueden incorporarse a los enterocitos mediante un transportador de glucosa dependiente de sodio (SGLT1). En el interior celular son también hidrolizados por la beta-glucosidasa citosólica convirtiéndose igualmente en quercetina (Murota et al., 2010).

La rutina no absorbida en el intestino delgado puede ser transformada por la microflora del intestino grueso en quercetina y sus metabolitos. En voluntarios sanos se ha comprobado que aproximadamente el 50 % de la rutina ingerida (75 mg) es transformada por la microflora en metabolitos de la quercetina del tipo de ácidos fenilacéticos (Manach et al., 2005).

En cualquier caso, los estudios de biodisponibilidad realizados en el hombre indican que solo una pequeña parte de la rutina ingerida puede acceder al torrente circulatorio en forma de conjugados de quercetina. Por ello, las concentraciones plasmáticas de quercetina son menores cuando se administra en forma de rutina (expresada en equivalentes de quercetina) que cuando se administra en forma de glucósidos sencillos o quercetina pura. Se considera que la biodisponibilidad de la rutina es aproximadamente un 20 % de la correspondiente a glucósidos de quercetina o quercetina pura (Manach et al., 2005).

Son muy escasos los datos de consumo referidos a rutina, solo un estudio realizado en Japón estima el consumo de rutina procedente de alimentos en 1,5 mg/día (Kimira et al., 1998). El contenido de rutina en los alimentos puede variar entre los 200 y 300 mg/kg.

En el área farmacéutica, el rutósido se utiliza en la elaboración de medicamentos destinados a mejorar la funcionalidad vascular, en la actualidad solo de aplicación tópica.

En el área de los alimentos, los estudios científicos disponibles hasta la actualidad no permiten justificar que la administración de rutina en forma de complementos alimenticios a humanos sanos pueda suponer un beneficio para la salud suficiente como para sustentar una aprobación de declaración saludable (EFSA, 2010).

8.5.4 Seguridad

Como ocurre en el caso de la quercetina y precisamente por ser fuente de la misma, algunos estudios indican que la administración de rutina puede inducir un efecto mutagénico (Yu et al., 1986). Sin embargo, en estudios posteriores realizados *in vitro*, en diferentes líneas celulares (médula ósea de ratón –RAE264,7–; cáncer de mama humano; HTC hepáticas), solo se aprecia efecto citotóxico a dosis muy elevadas (800 μ M) y tras un periodo largo de exposición (72 y 96 horas) lo que podría estar relacionado con la manifestación de una actividad prooxidante debida a la transformación metabólica de quercetina (Marcarini et al., 2011), si bien algunos autores indican efectos citotóxicos a concentraciones menores sobre otros tipos celulares lo que podría indicar diferencias respecto a las especificidades metabólicas de las diferentes líneas celulares ensayadas. La evaluación de la carcinogenicidad en hámster, tras la administración de rutina a una concentración del 10 % de la dieta, durante 735 días, resultó negativa (Morino et al., 1982).

Existen muy pocos ensayos que validen la ausencia de genotoxicidad de la rutina (Hardigree y Epler, 1978). Se ha comprobado que concentraciones muy elevadas de rutina (2 x 1.250 mg/kg p.c.), administradas por vía intraperitoneal, pueden inducir un leve daño en el ADN en células de médula ósea de ratones *Swiss-Webster*, no obstante, no parece probable que un consumo moderado de este flavonoide en forma de complemento por vía oral, pueda tener efectos clastogénicos en el hombre, si además se tiene en cuenta su baja biodisponibilidad (Da Silva et al., 2002).

En cuanto a la toxicidad crónica, en ratas, la administración de un 1 % de rutina en la dieta durante 400 días no indujo efectos negativos en las funciones fisiológicas, ni afectación a los órganos de los animales tratados (Wilson et al., 1947). Según AFSSA, los estudios de toxicidad realizados en animales *in vivo* no han mostrado efectos negativos, estableciéndose una DL_{50} por vía oral de entre 9,11 y 17,0 g/kg p.c. (AFSSA, 2008).

Aunque no referido directamente a rutina, sino a un derivado de la misma, isoquercitrina, producto de su hidrólisis enzimática parcial por pérdida de la ramnosa terminal, se ha comprobado que la suplementación de la dieta de ratas *Wistar* con concentraciones del 0,2; 1 y 5 % de isoquercitrina, durante 13 semanas, originó algunas alteraciones en los animales macho tratados con la concentración más elevada (5 %), no evidenciándose ningún efecto en las hembras. Se observó una leve inhibición de la ganancia ponderal, probablemente relacionada con una disminución de la trigliceridemia y una disminución en los glóbulos rojos, concentración de hemoglobina e índice hematocrito. Con los datos obtenidos de esta experimentación, los autores del trabajo establecieron un NOAEL para el derivado de la hidrólisis enzimática de rutina de 539 mg/kg p.c./día (1 % de la dieta) en ratas *Wistar* macho y de 3.227 mg/kg p.c./día (5 % de la dieta) en hembras (Hasumura et al., 2004).

No existen ensayos clínicos dirigidos a establecer la seguridad de la utilización por vía oral de la rutina, sin embargo, de los estudios realizados en humanos para verificar la eficacia en la prevención y tratamiento de diferentes enfermedades se desprende que dosis superiores a 500 mg/día no inducen efectos adversos ni en los parámetros sanguíneos ni en la función hepática (Boyle et al., 2000).

8.5.5 Conclusión

Son muy escasos los estudios científicos disponibles que garanticen la seguridad del rutósido en el hombre.

No obstante, teniendo en cuenta su presencia en numerosos alimentos, su baja biodisponibilidad cuando se administra por vía oral y considerando que es fuente de quercetina, el Comité Científico estima que la cantidad diaria de 150 mg de rutina, equivalentes a 75 mg de quercetina, no parece probable que pueda ejercer efectos tóxicos en el hombre.

De acuerdo con AFSSA, este Comité indica que en el caso de la utilización de una mezcla de ambas sustancias, la ingesta total de quercetina y rutina, debe ser equivalente a una ingesta menor o igual a los 75 mg referidos a quercetina.

Debido a la inexistencia de estudios científicos que garanticen la seguridad de su utilización en grupos especiales de población, de acuerdo con la propuesta de AESAN, se desaconseja su utilización en mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Saisine n°2007-SA-0231 de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Maisons-Alfort, le 8 septembre 2008.
- Boyle, S.P., Dobson, V.L., Duthie, S.J., Hinselwood, D.C., Kyle, J.A. y Collins, A.R. (2000). Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54, pp: 774-782.
- Da Silva, J., Herrmann, S.M., Heuser, V., Peres, W., Possa, C., Marroni, N., González-Gallego, J. y Erdtmann, B. (2002). Evaluation of the genotoxic effect of rutin and quercetin by comet assay and micronucleus test. *Food and Chemical Toxicology*, 40 (7), pp: 941-947.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to rutin and improvement of endothelium-dependent vasodilation (ID 1649, 1783) and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 1784) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). *The EFSA Journal*, 8 (10), pp: 1.751.
- Hardigree, A.A. y Epler, J.L. (1978). Comparative mutagenesis of plant flavonoids in microbial systems. *Mutation Research*, 58 (2-3), pp: 231-239.
- Hasumura, M., Yasuhara, K., Tamura, T., Imai, T., Mitsumori, K. y Hirose, M. (2004). Evaluation of the toxicity of enzymatically decomposed rutin with 13-weeks dietary administration to Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 42 (3), pp: 439-444.
- Kimira, M., Arai, Y., Shimoi, K. y Watanabe, S. (1998). Japanese intake of flavonoids and isoflavonoids from foods. *Journal of Epidemiology*, 8 (3), pp: 168-175.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A. y Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81 (1), pp: 230S-242S.

- Marcarini, C.J., Ferreira Tsuboy, M.S., Cabral, L.R., Ribeiro, L., Hoffmann-Campo, C. y Mantovani, M. (2011). Investigation of cytotoxic, apoptosis-inducing, genotoxic and protective effects of the flavonoid rutin in HTC hepatic cells. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63 (5), pp: 459-465.
- Morino, K., Matsukara, N., Kawachi, T., Ohgaki, H., Sugimura, T. y Hirono, I. (1982). Carcinogenicity test of quercetin and rutin in golden hamsters by oral administration. *Carcinogenesis*, 3 (1), pp: 93-97.
- Murota, K., Matsuda, N., Kashino, Y., Fujikura, Y., Nakamura, T., Kato, Y., Shimizu, R., Okuyama, S., Tanaka, H., Koda, T., Sekido, K. y Terao, J. (2010). Alpha-Oligoglucosylation of a sugar moiety enhances the bioavailability of quercetin glucosides in humans. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 501 (1), pp: 91-97.
- Wilson, R.H., Mortarotti, T.G. y Doxtader, E.K. (1947). Toxicity studies on rutin. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 64, pp: 324-327.
- Yu, C.B., Swaminathan, B., Butler, L.G. y Pratt, D.E. (1986). Isolation and identification of rutin as the major mutagenic of red wine. *Mutation Research*, 170 (3), pp: 103-113.

9. Nucleótidos

9.1 Adenosina, guanosina, uridina, citidina, inosina 5-monofosfato y sus sales sódicas

9.1.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de 0,45 g para la suma de adenosina, citidina, guanosina, inosina y uridina. Dicha propuesta se ha consultado con la industria.

El Reglamento (CE) N° 953/2009 incluye a los nucleótidos (ácido adenosina-5'-fosfórico, ácido citidina-5'-monofosfórico, ácido guanosina-5'-fosfórico, ácido inosina-5'-fosfórico, ácido uridina-5'-fosfórico y sus sales sódicas) entre las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial (UE, 2009). En concreto, pueden añadirse en los alimentos dietéticos destinados a una alimentación especial, incluidos los alimentos destinados a usos médicos especiales.

Los nucleótidos también están incluidos en la Directiva 2006/141/CE (UE, 2006) relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y su transposición en España a través del Real Decreto 867/2008 (BOE, 2008) permite, al establecer la composición básica de los preparados para lactantes cuando se reconstituyen de acuerdo con las instrucciones del fabricante, la utilización de determinadas cantidades de citidina 5'-monofosfato, uridina 5'-monofosfato, adenosina 5'-monofosfato, guanosina 5'-monofosfato e inosina 5'-monofosfato, siempre que la concentración total de nucleótidos no sea superior a 1,2 mg/100 kJ (5 mg/100 kcal).

En Italia los nucleótidos están autorizados sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2012).

9.1.2 Características y fuentes

Los nucleótidos se estructuran sobre bases nitrogenadas heterocíclicas, púricas o pirimidínicas, que constituyen las moléculas fundamentales de nucleótidos y ácidos nucleicos, DNA y RNA. Las principales pirimidinas que forman parte de los nucleótidos son citosina, uracilo y timina y las purinas son adenina y guanina. Estas bases nitrogenadas se transforman en nucleósidos, cuando se unen a una pentosa, ribosa o 2-deoxiribosa, por enlaces glucosídicos. Posteriormente, la formación del nucleótido ocurre tras la unión por esterificación de la pentosa del nucleósido con, al menos, una molécula de ácido fosfórico, siendo fácilmente interconvertidos en las formas di- o tri-fosforiladas dependiendo de su función energética o metabólica celular (Rudolph, 1994) (Hess y Greenberg, 2012).

Los nucleótidos están presentes de forma natural en todos los alimentos de origen animal y vegetal de forma mayoritaria como componentes de las nucleoproteínas, aunque también como nucleótidos libres y ácidos nucleicos. Existen grandes diferencias en el contenido total dependiendo del tipo de alimento (Gil, 2002).

Aunque existe una síntesis *de novo* y "vías de rescate" (*salvage pathways*) en el hombre (Traut, 2002), y no pueden reconocerse como nutrientes esenciales, se reconoce desde hace tiempo la existencia de requerimientos nutricionales de estos compuestos. Así, diversos autores (Van Buren y Rudolph, 1997) (Carver, 1999), en base a esos requerimientos, les asignan una categoría de "condicionalmente esenciales" en algunas situaciones especiales como en el crecimiento rápido, malnutrición infección o lesiones (Rudolph et al., 1990) (Uauy et al., 1996) (Carver, 1999) (Fontana et al., 2010).

El aporte de nucleótidos exógeno proviene de su amplia distribución en los alimentos que consumimos en nuestra dieta habitual, especialmente de aquellos que contienen elementos celulares y nucleoproteínas. Por ejemplo, son buenas fuentes de nucleótidos las vísceras (corazón, hígado, etc.) y los mariscos y moluscos (Kojima, 1974) (Clifford y Story, 1976) (Barness, 1994). El contenido total de RNA en vísceras oscila entre 50 y 400 mg/100 g, de 80 a 350 mg/100 g en alimentos de origen marino y de 140 a 490 mg/100 g en legumbres secas. La leche también contiene cantidades significativas de nucleótidos, especialmente la leche humana (Gil, 2002) (Verkerk y Gil, 2009). En la Tabla 3 se recoge el contenido en nucleótidos de diferentes alimentos (Verkerk y Gil, 2009), aunque ese contenido puede variar entre individuos y dentro de un mismo individuo en diferentes momentos.

Tabla 3. Contenido en nucleótidos de varios alimentos (mg/100 g)

Alimento	Purinas			Pirimidinas		Referencia
	AMP	GMP	IMP	CMP	UMP	
Suero lácteo, desecado	19	0	4	270	1	(Mateo, 2005)
Proteína aislada de suero lácteo	0	0	159	34	89	(Mateo, 2005)
Cangrejo de Shangai	75	2	34	-	-	(Chen y Zhang, 2007)
Ternera	-	2,2	163	-	-	(Sugita, 1990)
Cerdo	-	3,7	186	-	-	(Sugita, 1990)
Pollo	-	2,2	115	-	-	(Sugita, 1990)
Ballena	-	5,3	326	-	-	(Sugita, 1990)
Jurel, Chicharro	-	0	323	-	-	(Sugita, 1990)
Pez dulce o Ayu	-	0	287	-	-	(Sugita, 1990)
Lubina o Róbalo	-	0	188	-	-	(Sugita, 1990)
Sardina	-	0	287	-	-	(Sugita, 1990)
Chopa o Besugo	-	0	421	-	-	(Sugita, 1990)
Lucio	-	0	227	-	-	(Sugita, 1990)
Verdel/Caballa	-	0	286	-	-	(Sugita, 1990)
Salmón chum	-	0	235	-	-	(Sugita, 1990)
Atún	-	0	286	-	-	(Sugita, 1990)
Pez globo	-	0	287	-	-	(Sugita, 1990)
Anguila	-	0	165	-	-	(Sugita, 1990)
Bonito seco	-	0	630 -1.310	-	-	(Sugita, 1990)

Es importante señalar que las proteínas de organismos unicelulares tienen concentraciones siete veces mayores de ácidos nucleicos que las carnes (Ingledeew, 1999). Así, las levaduras son una excelente fuente de nucleótidos (Tibbets, 2002) (Li et al., 2007). Por ello, las levaduras producidas para la fabricación del pan y la cerveza son una buena fuente de nucleótidos para su uso en la elaboración de complementos.

9.1.3 Nutrición y metabolismo

Existen pocos estudios sobre la ingesta de nucleótidos a través de la dieta en adultos. Si se asume un consumo de 500 g/día o más de cualquier producto de origen animal (terrestre o acuático), y que estos se preparan con saborizantes permitidos que contienen fuentes concentradas de nucleótidos, las ingestas serían de 1.000-1.500 mg/kg p.c./día, lo que supone entre 17 y 25 mg/kg p.c./día. Estos datos son estimaciones no habiéndose publicado datos, hasta el momento. Por tanto, se puede inferir una ingesta dietética máxima de nucleótidos de 25 mg/kg p.c./día.

Los nucleótidos, como se ha mencionado, se sintetizan *de novo* a partir de metabolitos como L-glutamina, aspartato y glicina, de forma mayoritaria en hígado, son recuperados de la degradación del RNA y DNA y los ingerimos a través de la dieta con los alimentos que los contienen (Grimble y Westwood, 2001). La importancia relativa de estos tres procesos para el mantenimiento de una reserva corporal de nucleótidos y nucleósidos varía tanto con el tejido como de la fase del ciclo celular (Fairbanks et al., 1999) (Grimble y Westwood, 2001). El aporte exógeno adquiere una especial relevancia en el caso de tejidos y células con gran "recambio", como aquellos que crecen de forma rápida o aquellos relacionados con la inmunidad. El enterocito es particularmente dependiente de los nucleótidos exógenos.

Los nucleótidos no se absorben como tales sino, tras desfosforilación, como nucleósidos por mecanismos activos y pasivos (Ngo et al., 2001) (Scharrer et al., 2002) y de esta forma son metabolizados. El enterocito capta más del 90 % de los nucleósidos exógenos y endógenos y las bases. Los metabolitos son utilizados por las "vías de rescate", resintetizándose los nucleótidos y de esta manera, atender a las necesidades del organismo.

La degradación de los nucleótidos depende de si las bases constituyentes son púricas o pirimidínicas. Los nucleótidos con purinas, tras la separación del fosfato y la ribosa, las bases nitrogenadas son oxidadas. En el hombre el producto final del metabolismo es el ácido úrico que es excretado en orina y que cuando alcanza concentraciones séricas superiores a 7 mg/dl puede precipitar formándose cristales de urato en las articulaciones, en distintos tejidos y en sangre. Las pirimidinas sufren, a diferencia de las purinas, la rotura del anillo, siendo los productos finales de su catabolismo beta-aminoácidos (beta-alanina), algunos dipéptidos como anserina y carnosina y beta-aminoisobutirato, además de amonio y dióxido de carbono (Verkerk y Gil, 2009).

9.1.4 Seguridad

En este apartado recogeremos la información contenida en un informe realizado en mayo de 2009 por Verkerk y Gil sobre seguridad de la suplementación con nucleótidos en humanos.

En 1974, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) aprobó el uso de los 5'-ribonucleótidos como aditivos alimentarios (JECFA, 1975). Esta evaluación fue la base de la aprobación

de los 5'-ribonucleótidos para su inclusión en alimentos para usos nutricionales especiales (PARNUTS) recogido en la Directiva 2001/15/EC (UE, 2001).

En función de los estudios toxicológicos disponibles sobre reproducción, teratogenicidad y toxicidad a corto y largo plazo así como los estudios de observación en humanos no se ha visto necesario establecer una IDA (JECFA, 1975). Es decir, que de acuerdo con todos los datos disponibles, la ingesta diaria total de estas sustancias a través de los alimentos, no constituye un peligro para la salud.

Uno de los aspectos claves estudiados para la evaluación se refiere a los niveles de excreción de ácido úrico tras la ingesta de nucleótidos de purina. La administración de 5'-ribonucleótido disódico (DSRN) hasta dosis de 67 mg/kg p.c., permitieron establecer un NOAEL para nucleótidos de purina de 33 mg/kg p.c. (2.000 mg/día en un adulto). Lógicamente y por los productos finales de su metabolismo, los nucleótidos de pirimidina tendrían un LOAEL sensiblemente mayor (Verkerk y Gil, 2009).

Los trabajos disponibles sobre la administración de nucleótidos, tanto a humanos sanos (McNaughton et al., 2006, 2007) como a enfermos (Uauy et al., 1996) (Carver, 1999) (Schlimme et al., 2000) (Grimble y Westwood, 2001) (Schaller et al., 2007), no han descrito ningún efecto adverso.

La ingesta de nucleótidos en adultos es muy variable y oscila dependiendo de las diferentes culturas y también en el tiempo. De los estudios de ingestas máximas se ha llegado a estimar unos 25 mg/kg p.c. (1.500 mg/día) aunque no existen estimaciones precisas. En la actualidad, la seguridad de la ingesta total de nucleótidos depende más de la ingesta de purinas que de pirimidinas debido a su catabolismo a urato (Verkerk y Gil, 2009).

En el Reino Unido los complementos de nucleótidos comercializados recomiendan unas dosis, dependiendo del individuo, entre 2,25 y 6,75 mg/kg p.c.

La Unión Europea ha autorizado los nucleótidos como aditivos alimentarios que potencian el sabor *umami* y no ha establecido un nivel máximo aunque establece el principio de *quantum satis* (Fuke y Konosu, 1991) (UE, 1995) (Oruna-Concha et al., 2007).

9.1.5 Conclusión

Los datos disponibles en la actualidad establecen una muy baja toxicidad de los nucleótidos exógenos, lo que viene avalado por la no especificación de una IDA para ellos.

Para el consumo de nucleótidos de purina se ha establecido un NOAEL de aproximadamente 33 mg/kg de peso corporal (2.000 mg/día), por su posible influencia en los niveles de ácido úrico en sangre (Verkerk y Gil, 2009). No se establece NOAEL para los nucleótidos de pirimidina.

El Comité Científico concluye que la cantidad máxima diaria propuesta por la AESAN de 0,45 g/día (equivalente a 7,5 mg/kg de peso corporal para un adulto de 60 kg) para la suma de adenosina, citidina, guanosina, inosina y uridina, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Barness, L. (1994). Dietary source of nucleotides-from breast milk to weaning. *Journal of Nutrition*, 124, pp: 128-130.
- BOE (2008). Real Decreto 867/2008 de 23 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación. BOE 131 del 30 de mayo de 2008, pp: 25.121-25.137.

- Carver, J.D. (1999). Dietary nucleotides: effects on the immune and gastrointestinal systems. *Acta Paediatrica supplement*, 88 (430), pp: 83-88.
- Chen, D.W. y Zhang, M. (2007). Non-volatile taste active compounds in the meat of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). *Food Chemistry*, 104 (3), pp: 1.200-1.205.
- Clifford, A.J. y Story, D.L. (1976). Levels of purines in foods and their metabolic effect in rats. *Journal of Nutrition*, 106, pp: 435-442.
- Fairbanks, L.D., Rückemann, K., Qiu, Y., Hawrylowicz, C.M., Richards, D.F., Swaminathan, R., Kirschbaum, B. y Simmonds, H.A. (1999). Methotrexate inhibits the first committed step of purine biosynthesis in mitogen-stimulated human T-lymphocytes: a metabolic basis for efficacy in rheumatoid arthritis? *The Biochemical Journal*, 342 (Pt 1), pp: 143-152.
- Fontana, L., Martínez-Augustín, O. y Gil, A. (2010). Role of Dietary Nucleotides in Immunity. *Functional Food Reviews*, 2 (3), pp: 91-100.
- Fuke, S. y Konosu, S. (1991). Taste-active components in some foods: a review of Japanese research. *Physiology and Behavior*, 49 (5), pp: 863-868.
- Gil, A. (2002). Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. *European Journal of Nutrition*, 56 (3), pp: S1-4.
- Grimble, G.K. y Westwood, O.M. (2001). Nucleotides as immunomodulators in clinical nutrition. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 4 (1), pp: 57-64.
- Hess, J. y Greenberg, N.A. (2012). The Role of Nucleotides in the Immune and Gastrointestinal Systems: Potential Clinical Applications. *Nutrition in Clinical Practice*, 27, pp: 281-294.
- Ingledeu, W.M. (1999). Yeast-could you base a business on this bug? En libro: *Biotechnology in the Feed Industry*. Lyons TP, Jacques KA (Eds). Proc. of Alltech's 15th Annual Symposium. Pp. 27-47. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiologico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 25-11-12].
- JECFA (1975). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization Techn. Rep. Ser., 1975, No. 576; FAO Nutrition Meetings Report Series, No. 55, Geneva. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v06je02.htm> [acceso: 21-11-12].
- Kojima, K. (1974). Safety evaluation of disodium 5'-inosinate, disodium 5'-guanylate and disodium 5'-ribonucleate. *Toxicology*, 2, pp: 185-206.
- Li, P., Lawrence, A.L., Castille, F.L. y Gatlin, D.M. (2007). Preliminary evaluation of a purified nucleotide mixture as a dietary supplement for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research*, 38 (8), pp: 887-890.
- Mateo, C.D. (2005). Aspects of nucleotide nutrition in pigs. Thesis dissertation. South Dakota State University, Estados Unidos, pp: 1-171.
- McNaughton, L., Bentley, D.J. y Koepfel, P. (2006). The effects of a nucleotide supplement on salivary IgA and cortisol after moderate endurance exercise. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 46 (1), pp: 84-89.
- McNaughton, L., Bentley, D. y Koepfel, P. (2007). The effects of a nucleotide supplement on the immune and metabolic response to short term, high intensity exercise performance in trained male subjects. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 47 (1), pp: 112-118.
- Ngo, L.Y., Patil, S.D. y Unadkat, J.D. (2001). Ontogenic and longitudinal activity of Na⁺-nucleoside transporters in the human intestine. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 280, pp: G475-G481.
- Oruna-Concha, M.J., Methven, L., Blumenthal, H., Young, C. y Mottram, D.S. (2007). Differences in glutamic acid and 5'-ribonucleotide contents between flesh and pulp of tomatoes and the relationship with umami taste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (14), pp: 5.776-5.780.
- Rudolph, F.B., Kulkarni, A.D., Fanslow, W.C., Pizzini, R.P., Kumar, S. y Van Buren, C.T. (1990). Role of RNA as a dietary source of pyrimidines and purines in immune function. *Nutrition*, 6 (1), pp: 45-52.
- Rudolph, F.B. (1994). Biochemistry and Physiology of Nucleotides. *Journal of Nutrition*, 124, pp: 1245-1275.

- Schaller, J.P., Buck, R.H. y Rueda, R. (2007). Ribonucleotides: conditionally essential nutrients shown to enhance immune function and reduce diarrheal disease in infants. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 12 (1), pp: 35-44. Epub 2006 Nov 30. Review. [Erratum in: *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 12 (4): 326-8].
- Scharrer, E., Rech, K.S. y Grenacher, B. (2002). Characteristics of Na⁺-dependent intestinal nucleoside transport in the pig. *The Journal of Comparative Physiology Biochemical*, 172, pp: 309-314.
- Schlimme, E., Martin, D. y Meisel, H. (2000). Nucleosides and nucleotides: natural bioactive substances in milk and colostrum. *British Journal of Nutrition*, 84 (1), pp: 559-68.
- Sugita, Y.H. (1990). Flavors enhancers. En libro: *Food Additives*, (Branen AL, Davidson PM and Salminea S, Eds). Dekker, New York, pp: 259-296.
- Tibbets, G.W. (2002). Nucleotides from yeast extract: potential to replace animal protein sources in food animal diets. En libro: *Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's, 15th Annual Symposium*, Lyons TP, Jacques KA (Eds). Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp: 435-443.
- Traut, T. (2002). Nucleotide synthesis de novo. *Encyclopedia of Life Sciences*, Macmillan Publishers Ltd. Uauy R, Quan R, Gil A. Nucleotides in infant nutrition. En libro: *Nutritional and biological significance of dietary nucleotides and nucleic acids*. Gil A, Uauy R (Eds), Barcelona: Limpergraf, 1996:169.
- Uauy, R., Quan, R. y Gil, A. (1996). Nucleotides in infant nutrition. En libro: *Nutritional and Biological Significance of Dietary Nucleotides and Nucleic Acids*, ed. A Gil & R Uauy. Barcelona: Doyma, pp: 169-180.
- UE (1995). Directiva 95/2/CE Del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de febrero de 1995, relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. DO L 61 de 18 de marzo de 1995, pp: 1-40.
- UE (2001). Directiva de la Comisión 2001/15/EC, de 15 de febrero de 2001, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 52 del 22 de febrero de 2001, pp: 19-25.
- UE (2006). Directiva de la Comisión 2006/141/CE, de 22 de diciembre de 2006, relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y por la que se modifica la Directiva 1999/21/CE. DO L 401 del 30 de diciembre de 2006, pp: 1-33.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269 del 14 de octubre de 2009, pp: 9-19.
- Verkerk, R. y Gil, A. (2009). The Safety of Supplementary Nucleotides in Human. Comunicación personal.
- Van Buren, C.T. y Rudolph, F. (1997). Dietary nucleotides: a conditional requirement. *Nutrition*, 13 (5), pp: 470-472.

10. Polisacáridos y oligosacáridos

10.1 Beta-glucanos

10.1.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto incluir los beta-glucanos procedentes de avena y de cebada en el Real Decreto 1487/2009 (BOE, 2009) con una cantidad máxima diaria de 4 g al día. Dicha propuesta está basada en la existencia de dos declaraciones de propiedades saludables autorizadas para los beta-glucanos derivadas de opiniones positivas de EFSA en las que se establece que queda probado que los beta-glucanos a una dosis de 3 g al día contribuyen a mantener unos niveles normales de colesterol sanguíneo y a dosis de 4 g/30 g de hidratos de carbono, contribuyen a reducir la glicemia postprandial (EFSA, 2011).

En Italia el beta-glucano está autorizado en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2012).

En Dinamarca está autorizado en complementos alimenticios en una cantidad total máxima que no debe superar los 200 mg por dosis diaria recomendada de 1,3-1,6 beta-glucano (Dinamarca, 2011).

10.1.2 Características y fuentes

Los beta-glucanos son un grupo heterogéneo de polisacáridos no amiláceos, compuesto por monómeros de D-glucosa unidos por enlaces glucosídicos β (Zekovic et al., 2005). La estructura macromolecular del beta-glucano depende tanto de la fuente como del método de extracción. La estructura más simple es en forma de β -(1,3)-D-glucano de cadena lineal, no ramificada, que se encuentra en procariotas y eucariotas (McIntosh et al., 2005). Otro tipo estructural relativamente simple se encuentra principalmente en las paredes celulares no lignificadas de granos de cereales, que consisten en estructuras lineales de β -(1,3; 1,4)-D-glucanos (Wood, 2007). Los glucanos de cebada, avena o trigo se encuentran en las paredes celulares del endospermo, mientras que en el caso del sorgo y otros cereales se concentran en la capa de la aleurona. Las estructuras ramificadas de beta-glucanos consisten en moléculas de glucanos β -(1,3) o β -(1,4) unidas a través de ramificaciones laterales a grupos (1,2)- o (1,6)- β -glucopiranosilos (Barsanti et al., 2011). Las estructuras ramificadas son los principales componentes estructurales de las paredes celulares de levaduras, hongos y algunas bacterias o algas (Volman et al., 2008).

Las fuentes de beta-glucanos son muy diversas. Una de las fuentes más comunes de β -(1,3)-D-glucanos para su uso como complementos procede de la pared celular de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Sin embargo, los β -(1,3) o β -(1,4) glucanos también se extraen de los salvados de algunos cereales como la avena y cebada, y en un grado menor del centeno y el trigo. Los β -(1,3)-D-glucanos de la levadura son a menudo insolubles. Los que se extraen de los cereales pueden ser solubles o insolubles. Otras fuentes incluyen algunos tipos de algas y varias especies de hongos, como *reishi* (*Ganoderma lucidum*), *shiitake* (*Lentinus edodes*), *maitake* (*Grifola frondosa*), *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*, *Inonotus obliquus* (seta chaga) y *enokitake* (*Flammulina velutipes*).

El Panel NDA de EFSA ha evaluado favorablemente diferentes declaraciones de propiedades saludables relativas a los beta-glucanos:

- Los beta-glucanos contribuyen al mantenimiento normal de los niveles plasmáticos de colesterol. EFSA indica que esta declaración se puede utilizar cuando el alimento contiene al menos 1 g de beta-glucanos procedentes de avena, salvado de avena, cebada, salvado de cebada, o una mezcla

de estas fuentes por porción cuantificada. EFSA indica que para poder utilizar esta declaración, los consumidores deberán estar informados de que el efecto beneficioso se obtiene con la ingesta diaria de 3 g de beta-glucanos procedentes de las fuentes antes mencionadas.

- El consumo de beta-glucanos de avena o cebada como parte de una comida contribuye a disminuir el pico de glucosa postprandial tras la toma de este alimento. Según EFSA, la declaración solo se podrá utilizar para aquellos alimentos que contengan al menos 4 g de beta-glucanos de avena o cebada por cada 30 g de hidratos de carbono disponibles en una porción cuantificada como parte de la comida. Para poder declarar esta propiedad saludable, se deberá informar al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene mediante el consumo de beta-glucanos de avena o cebada a través de la misma toma.
- El beta-glucano de avena se ha demostrado que disminuye los niveles de colesterol en sangre. EFSA dicta que para la utilización de esta declaración, se deberá informar al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene con una ingesta diaria de 3 g de beta-glucano de avena. Esta declaración podrá ser utilizada en alimentos que proporcionan al menos 1 g de beta-glucano de avena por porción cuantificada.

10.1.3 Nutrición y metabolismo

Los beta-glucanos una vez ingeridos prácticamente no se absorben en el tracto gastrointestinal debido a su gran tamaño molecular y a la incapacidad de las enzimas digestivas humanas para hidrolizarlos. Estudios en animales han mostrado que una pequeña fracción de beta-glucanos puede ser captada en el intestino por macrófagos e internalizada en el enterocito en fracciones pequeñas de beta-glucanos que pueden pasar a circulación general y ser transportados hasta el sistema retículo endotelial, pudiendo modular el sistema inmune. Sin embargo, los resultados de estos estudios deben interpretarse con cautela ya que se trata de ensayos la mayoría de ellos *in vitro* y en animales de experimentación (Chan et al., 2009). No existe evidencia suficiente para suponer que estos mecanismos de acción ocurran en humanos. Por ello, es improbable que los beta-glucanos ejerzan efectos sistémicos directos. No se conocen efectos adversos de la posible interacción entre los beta-glucanos y las células de la mucosa del intestino delgado. Al llegar al colon, los beta-glucanos son fermentados por la microbiota intestinal produciéndose H_2 , CO_2 , CH_4 y ácidos grasos de cadena corta, y volátiles. Estos ácidos acidifican el contenido intestinal y actúan como moduladores de la composición de la microbiota intestinal, ya que favorecen el crecimiento de determinadas especies microbianas. Además, los ácidos grasos volátiles resultantes de la fermentación son en parte utilizados como combustible en el enterocito y en parte alcanzan la circulación general produciendo efectos sistémicos potencialmente beneficiosos.

Diferentes alimentos contribuyen a la ingesta total de beta-glucanos, entre los que destacan: avena, cebada, trigo, centeno y alubias.

Se desconoce en gran medida la ingesta de beta-glucanos en nuestro país. Recientemente se ha realizado una estimación de ingesta en el Reino Unido partiendo de los contenidos de beta-glucanos de los distintos alimentos y de su consumo en aquel país (EFSA, 2011). Se ha estimado que un hombre adulto ingiere una media de 726 mg/día, siendo el percentil 97,5 de 4.674 mg/día (9 y 52 mg/kg p.c./día, respectivamente). En el caso de niños de 1,5 a 4,5 años la ingesta media de beta-glucanos se estima en 281 mg/día (20 mg/kg p.c./día), siendo el consumo en el percentil 97,5 de 115 mg/kg p.c./día.

El consumo de beta-glucanos a través de la alimentación es tradicionalmente muy alto en algunos países como, por ejemplo, en el Magreb (Marruecos, Argelia, Túnez) en los que la cebada es un ingrediente de muchos alimentos o platos tradicionales (pan, sopas, gachas, etc.), por lo que el consumo medio se estima en 172 g/día en el caso de Marruecos, estimándose que ello contribuye a un consumo medio de beta-glucanos del orden de los 6 g/día (Ferrante et al., 2001).

10.1.4 Seguridad

La FDA ha evaluado la seguridad de uso de beta-glucanos de cebada. En 2006 se otorgó la consideración de sustancia GRAS a un producto rico en beta-glucanos aislados de la cebada (FDA, 2006), para ser utilizado en todos los alimentos excepto en fórmulas infantiles.

Productos a base de beta-glucano procedentes de la avena (*Oatrim*[®], *OatVantageT*[®]) se comercializan desde hace más de 15 años en Estados Unidos y otros países como un ingrediente para reemplazar grasas en los alimentos sin que desde su introducción se hayan reportado efectos indeseables. En dicho país también está autorizado su uso, tras ser evaluada la seguridad, en muchos alimentos tales como carnes, carnes procesadas, salsas para aliñar, mayonesa, quesos procesados, bollería, yogur, helados, postres congelados, *snacks*, margarinas, salsas para untar, entrantes congelados, etc.

Dos estudios de toxicidad oral a 28 días, uno en ratas *Wistar* (Delaney et al., 2003a) y el otro en ratones (Delaney et al., 2003b), no han mostrado efectos adversos sobre el peso del animal, el peso de los órganos, el estado general del animal, cambios neurocomportamentales, diferentes determinaciones bioquímicas y alteraciones hematológicas, de la administración de beta-glucanos de cebada. En estos estudios se ha observado un NOAEL de 5,6 g de beta-glucanos/kg p.c./día en ratas y entre 19 y 23,6 g/kg p.c./día en ratones (hembras y machos, respectivamente).

Un estudio de toxicidad oral a 28 días realizado en ratas ha demostrado que dosis altas de beta-glucanos procedentes de la cebada (5,9 g/kg p.c./día) son bien toleradas en cuanto al estado general de las ratas, efectos neurocomportamentales, crecimiento, ingesta de agua y energía, hematología, bioquímica clínica, peso de los órganos y alteraciones patológicas aparecidas. Esta dosis es 100 veces más alta que la sugerida por la FDA para reducir los niveles de colesterol en humanos (FDA, 2005).

No existen estudios en humanos cuya finalidad sea específicamente evaluar la seguridad y tolerancia del uso de beta-glucanos procedentes de la avena, cebada o trigo. Sin embargo, diferentes productos a base de concentrados de beta-glucanos se han incorporado a matrices alimentarias (magdalenas, cereales, panes y bebidas). Los ensayos clínicos con estos alimentos que contienen productos a base de beta-glucanos mostraron también una buena aceptabilidad y tolerancia por parte de los participantes.

Se han reportado más de 150 ensayos clínicos en seres humanos administrando productos que contienen beta-glucanos de avena, cebada y otras fuentes. El objetivo de la mayoría de estos estudios fue examinar el efecto de la ingesta de beta-glucanos sobre los niveles de colesterol o glucosa. Aunque el objetivo primario de estos estudios fue el análisis de la eficacia, algunos incluyeron observaciones clínicas como la aparición de efectos adversos, proporcionando la oportunidad indirecta de valorar la seguridad y la tolerancia. Varios de los ensayos clínicos fueron a doble ciego, controlados con placebo. Estos ensayos clínicos se resumen en notificaciones GRAS recientes de la FDA para beta-glucanos de la cebada (FDA, 2011), el informe de declaraciones saludables de EFSA (2010a, 2010b), la declaración de salud de

la FDA (1997, 2002) y varios metaanálisis (Ripsin et al., 1992) (Brown et al., 1999) (Whitehead et al., 2008) (Othman et al., 2011) (Tiwari y Cummins 2011). Estos informes y estudios no indican la existencia de problemas de seguridad derivados del uso de beta-glucanos. Recientemente se han revisado estos estudios, llegándose a la conclusión de que dosis de beta-glucanos de hasta 10 g/día se toleran bien. En estos estudios se observa una buena adscripción al tratamiento a largo plazo, lo que refuerza la idea de la buena tolerancia a estas dosis (Cloetens et al., 2012).

Dado que los beta-glucanos son fermentados por bacterias en el colon, su consumo puede provocar flatulencia, diarrea, distensión abdominal, cólicos abdominales, especialmente cuando el aumento de su consumo se produce de forma brusca (Beer et al., 1995) (Behall et al., 1997).

EFSA ha emitido las siguientes opiniones científicas positivas sobre la seguridad de diferentes fuentes de beta-glucanos como nuevos ingredientes:

- Beta-glucanos procedentes de levadura de *Saccharomyces cerevisiae* (EFSA, 2011). En forma de complementos alimenticios a dosis máximas de 375 mg/día, y de 600 mg/día en alimentos de utilidad nutricional especial. No está autorizado su uso en fórmulas infantiles de inicio o continuación.
- Chitin-glucan procedente del *Aspergillus niger* (EFSA, 2010c). En forma de complemento a dosis de 2 a 5 g/día.
- Extracto micelar de *Lentinula edodes* (EFSA, 2010d). Autorizado como complemento o como ingrediente en yogures, refrescos, alimentos procesados o cocinados, y productos horneados. A dosis de 2,5 ml de *Lentinex*® que contiene 1 mg lentinan (beta-glucano)/ml, que corresponde a 41,7 µg/kg p.c./día para un individuo de 60 kg.

10.1.5 Conclusión

EFSA ha emitido informes favorables a la utilización de diversas fuentes de beta-glucanos como nuevos ingredientes o como complementos, constatando la seguridad de su empleo a dosis que van desde 375 mg/día a 5 g/día, dependiendo de la fuente de beta-glucanos y del uso previsto (como ingrediente o como complemento).

No se han señalado efectos adversos asociados al uso de estos compuestos en animales de experimentación, y los ensayos clínicos realizados en humanos tampoco han evidenciado efectos adversos importantes. Cabe señalar que muchos estudios clínicos en humanos se han realizado con el objetivo de demostrar la eficacia de los beta-glucanos especialmente sobre el perfil lipídico y el metabolismo de la glucosa, y que sólo secundariamente y tras el consumo de dosis muy altas se han mencionado efectos gastrointestinales como flatulencia, malestar abdominal o diarrea. Estos efectos que derivan de la fermentación colónica de este tipo de fibra se producen de forma transitoria cuando existe un aumento brusco en el consumo de fibras fermentables.

El Comité Científico concluye que la propuesta de la AESAN de la ingesta de una cantidad máxima diaria de 4 g de beta-glucanos es aceptable desde el punto de vista de la seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Además, teniendo en cuenta que la dosis que EFSA considera eficaz para reducir la glucemia postprandial para los beta-glucanos de avena o cebada es de 4 g por toma, se considera prudente que los complementos de fibra no aporten cantidades superiores a 4 g de beta-glucanos por toma ya que dosis superiores no se ha demostrado que sean más eficaces en reducir la glucemia postprandial.

Por ello, el Comité Científico de la AESAN aconseja que en los envases de complementos alimenticios a base de beta-glucanos figuren las siguientes advertencias:

- Cuando se tome este tipo de preparados se deben evitar otros complementos alimenticios a base de fibra dietética.
- Dado que la fibra puede tener interacciones con algunos medicamentos alterando su eficacia, se recomienda consultar al médico en caso de consumirse de forma concomitante con medicamentos.

Referencias

- Barsanti, L., Passarelli, V., Evangelista, V., Frassanito, A.M. y Gualtieri, P. (2011). Chemistry, physico-chemistry and applications linked to biological activities of β -glucans. *Natural Product Reports*, 28 (3), pp: 457-466.
- Beer, M.U., Arrigoni, E. y Amado, R. (1995). Effects of oat gum on blood cholesterol levels in healthy young men. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49, pp:17-22.
- Behall, K.M., Scholfield, D.J. y Hallfrisch, J. (1997). Effect of beta-glucan level in oat fiber extracts on blood lipids in men and women. *Journal of the American College of Nutrition*, 16, pp: 46-51.
- BOE (2009). Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios. BOE 244 de 9 de octubre de 2009, pp: 85.370-85.378.
- Brown, L., Rosner, B., Willett, W.W. y Sacks, F.M. (1999). Cholesterol-lowering effects of dietary fibre: a meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, pp: 30-42.
- Chan, G.C., Chan, W.K. y Sze, D.M. (2009). The effects of beta-glucan on human immune and cancer cells. *Journal of Hematology and Oncology*, 2, pp: 1-25.
- Cloetens, L., Ulmius, M., Johansson-Persson, A., Akesson, B. y Onning, G. (2012) Role of dietary beta-glucans in the prevention of the metabolic syndrome. *Nutrition Reviews*, 70 (8), pp: 444-458.
- Delaney, B., Carlson, T., Frazer, S., Zheng, T., Hess, R., Ostergren, K., Kierzek, K., Haworth, J., Knutson, N., Junker, K. y Jonker, D. (2003a). Evaluation of the toxicity of concentrated barley P-glucan in a 28-day feeding study in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 41 (4), pp: 477-487.
- Delaney, B., Carlson, T., Zheng, G.-H., Hess, R., Knutson, N., Frazer, S., Ostergren, K., van Zijverden, M., Knippels, L., Jonker, D. y Penninks, A. (2003b). Repeated dose oral toxicological evaluation of concentrated barley β -glucan in CD-1 mice including a recovery phase *Food and Chemical Toxicology*, 41 (8), pp: 1.089-1.102.
- Dinamarca (2011). Lovtidende A. Bekendtgørelse om tilsætning af visse andre stoffer end vitaminer og mineraler til fodevarer. Udgivet den 13 august 2011, Nr 888, 12 august 2011.
- EFSA (2010a). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to oat beta-glucan and lowering blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 8 (12), pp: 1.885.
- EFSA (2010b). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to beta-glucans from oats and barley and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1236, 1299), increase in satiety leading to a reduction in energy intake (ID 851, 852), reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 821, 824), and "digestive function" (ID 850) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9 (6), pp: 2.207.
- EFSA (2010c). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the safety of "Chitin-Glucan" as a Novel Food ingredient. *The EFSA Journal*, 8 (7), pp: 1.687.
- EFSA (2010d). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the safety of "Lentinus edodes extract" (*Lentinex*[®]) as a Novel Food ingredient. *The EFSA Journal*, 8 (7), pp: 1.685.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); Scientific Opinion on the safety of "Yeast beta-glucans" as a Novel Food ingredient. *The EFSA Journal*, 9 (5), pp: 2.137.

- FDA (1997). Food and Drug Administration. Food labeling: Health claims; oats and coronary heart disease. *Federal Register*, 62, pp: 3.584-3.601.
- FDA (2002). Food and Drug Administration. Food labeling: Health claims; soluble dietary fiber from certain foods and coronary heart disease. Interim final rule. *Federal Register*, 67, pp: 61.773-61.783.
- FDA (2005). Food and Drug Administration. Food labelling: health claims; soluble dietary fiber from certain foods and coronary heart disease. *Federal Register*, 70, pp: 76.150-76.162.
- FDA (2006). Food and Drug Administration. Notification of GRAS Status Regarding Barley Betafiber. Disponible en: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/grn_207.pdf [acceso: 27-11-12].
- FDA (2011). Food and Drug Administration. GRN 000344. Barley fiber. GRAS Notification by Cargill Inc. http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/GRN000344.pdf [acceso: 27-11-12].
- Ferrante, M.P., Di Camillo, A., Di Sario, S., Marconi, E., Cubadda, R. y Perrino, P. (2001). Variability of P-glucan and protein content in barley germplasm. *Tecnica Molitoria*, 52 (8), pp: 860-865.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiologico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 27-12-12].
- McIntosh, M., Stone, B.A. y Stanisich, V.A. (2005). Curdlan and other bacterial (1→3)-β-D-glucans. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68 (2), pp: 163-173.
- Othman, R.A., Moghadasian, M.H. y Jones, P.J. (2011). Cholesterol-lowering effects of oat beta-glucan. *Nutrition Reviews*, 69 (6), pp: 299-309.
- Ripsin, C.M., Keenan, J.M., Jacobs, D.R. Jr., Elmer, P.J., Welch, R.R., Van Horn, L., Liu, K., Tumbull, W.H., Thyne, F.W. y Kestin, M. (1992). Oat products and lipid lowering. A meta-analysis. *Journal of the American Medical Association*, 267, pp: 3.317-3.325.
- Tiwari, U. y Cummins, E. (2011). Meta-analysis of the effect of p-glucan intake on blood cholesterol and glucose levels. *Nutrition*, 27, pp: 1.008-1.016.
- Volman, J., Ramakers, J.D. y Plat, J. (2008). Dietary modulation of immune function by β-glucans. *Physiology and Behavior*, 94, (2), pp: 276-284.
- Whitehead, A. (2008). Meta-analysis to quantify the effects of oat beta-glucan on cholesterol. MPS Research Unit, Department of Mathematics and Statistics, Lancaster University, UK. (Unpublished, cited in EFSA, 2010).
- Wood, P.J. (2007). Cereal B-glucans in diet and health. *Journal of Cereal Science*, 46, pp: 230-238.
- Zekovic, D.B., Kwiatkowski, S., Vrvic, M.M., Jakovljevic, D. y Moran, C.A (2005). Natural and modified (1→3)-β-D-glucans in health promotion and disease alleviation. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25 (4), pp: 205-230.

10.2 Chitosán obtenido de caparazones de crustáceos

10.2.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto incluir el chitosán obtenido de caparazones de crustáceos en el Real Decreto 1487/2009 (BOE, 2009) en una cantidad máxima diaria de 3 g con la advertencia de que “un consumo excesivo puede causar malestar intestinal”. Dicha propuesta está basada en la existencia de una declaración de propiedades saludables emitida por EFSA en la que establece que queda probado que el chitosán a una dosis de 3 g al día contribuye a mantener los niveles normales de colesterol sanguíneo (EFSA, 2011). Por otra parte, Francia ha emitido una evaluación favorable de chitosán a la concentración de 2 g/día (AFSSA, 2008).

10.2.2 Características y fuentes

El chitosán es un polisacárido catiónico compuesto de unidades desacetiladas y acetiladas de la glucosamina (unidades de β -(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-D-glucosa y β -(1 \rightarrow 4)-2-amino-D-glucosa). No es componente intrínseco de los alimentos y se obtiene por desacetilación de la quitina procedente del caparazón de los crustáceos. También se obtiene a partir de los hongos *Agaricus bisporus* y *Aspergillus niger*.

El chitosán tiene un amplio abanico de aplicaciones en la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria. En el campo de la alimentación se utiliza fundamentalmente como fuente de fibra dietética pero, debido a su biocompatibilidad y a su naturaleza no tóxica, se usa como agente separador, adsorbente y clarificante (Knorr, 1991) (Pinotti et al., 1997). Además se ha observado su potencial de uso en envases para alimentos, en especial como películas y revestimientos comestibles (Tual et al., 2000). Otras propiedades que favorecen este uso son las de antioxidante, antimicrobiano y como barrera de oxígeno (Jeon et al., 2000, 2001).

La Unión Europea aceptó en el año 2008 el chitosán procedente de los hongos como nuevo ingrediente alimentario.

10.2.3 Nutrición y metabolismo

El chitosán no se absorbe a nivel intestinal pero afecta a las respuestas metabólicas y contribuye a reducir la absorción del colesterol y la glucemia (Kao et al., 2012). Los grupos amino del chitosán cargados positivamente parecen interactuar con las cargas negativas de los ácidos grasos biliares o ácidos grasos, reduciendo su absorción intestinal, mientras que la reducción de la absorción del colesterol, triglicéridos y esteroides se debe a interacciones hidrofóbicas con el chitosán (Chen et al., 2011).

Por otra parte, un estudio realizado para esclarecer el órgano diana y los mecanismos de acción del chitosán en ratones transgénicos ha mostrado que el chitosán activa, en cerebro y estómago, el receptor que regula la proliferación de peroxisomas (PPAR), receptor clave para la regulación del metabolismo de los ácidos grasos y de la glucosa (Kao et al., 2012).

EFSA por su parte considera científicamente probado que ingestas diarias de 3 g de chitosán “contribuyen a mantener los niveles normales de colesterol sanguíneo” (EFSA, 2011).

10.2.4 Seguridad

La toxicidad del chitosán ha sido ampliamente estudiada.

En estudios realizados con ratas y ratones alimentados con un 2 y un 5 % de chitosán se ha observado

un efecto negativo sobre el crecimiento y ganancia de peso corporal (AFSSA, 2008) así como una reducción en la absorción de vitamina B₂ y B₁₂ (Rodrigues et al., 2011, 2012), una disminución de la absorción intestinal de calcio, magnesio y hierro (Deuchi et al., 1995) y un aumento en la pérdida de calcio en la orina, y en consecuencia, una pérdida de masa ósea (Wada et al., 1997) (Yang et al., 2002).

Los estudios en animales también sugieren que el quitosán reduce la absorción de las vitaminas liposolubles A y E (AFSSA, 2008).

En un estudio de 4 semanas de duración en ratas con polihipovitaminosis, a las cuales se les suministró una dieta que contenía 0,4 y 0,9 % de quitosán no se observó efecto significativo alguno sobre los contenidos de las vitaminas C, B₁, B₂ y A en el hígado de los animales tratados, en la concentración de vitamina B₂ en sangre, ni en la excreción urinaria de tiamina y riboflavina. Sin embargo, una dosis más alta de quitosán produce una disminución de los niveles plasmáticos de vitamina E (Vrzhesinskaia et al., 2011).

Estudios en humanos

En ensayos controlados aleatorizados realizados en adultos con sobrepeso u obesos, a los cuales se les suministró quitosán durante 4 semanas de duración, se observó en comparación con el grupo control, una pérdida de peso, una disminución del colesterol total y una disminución en la presión arterial sistólica y diastólica estadísticamente significativa (Mhurchu et al., 2005) (Jull et al., 2008). Sin embargo, al revisar la calidad de estos ensayos se vio que los estudios más rigurosos sugerían un efecto débil del quitosán sobre la pérdida de peso corporal (Mhurchu et al., 2005).

Según la revisión bibliográfica realizada por AFSSA en 2008, los estudios clínicos realizados no muestran efecto nocivo alguno del quitosán a dosis de ingesta de entre 1 y 3 g/día durante un período de suplementación de entre 28 días a 1 año, a excepción de algunos casos de síntomas digestivos (AFSSA, 2008). También advierte que dosis superiores a 3 g/día ingeridas de forma continuada podrían reducir la biodisponibilidad de vitaminas liposolubles. Sin embargo, en un estudio posterior realizado con dosis orales de 6,75 g/día de quitosán administrado durante 8 semanas no se observaron diferencias en los niveles de vitaminas A, E, D y carotenos respecto al grupo que recibió placebo (Tapola et al., 2008).

Por otra parte, AFSSA señala que el quitosán puede aumentar el riesgo de alergias al estimular la absorción intestinal de los antígenos, aunque esta eventualidad no ha sido confirmada hasta la actualidad. Sin embargo, se ha informado de un caso de reacción anafiláctica al quitosán tras la ingesta oral de este compuesto (Kato et al., 2005).

También ha sido reportado un caso de potenciación del efecto anticoagulante de la warfarina con la ingesta de quitosán, lo que obliga a tener precaución ante la toma de anticoagulantes (Huang et al., 2007).

10.2.5 Conclusión

El Comité Científico considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de quitosán de 3 g es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Sin embargo, el Comité Científico de la AESAN aconseja que en los envases figure la advertencia de que un consumo excesivo de quitosán puede causar malestar intestinal.

Dado que la fibra puede tener interacciones con algunos medicamentos alterando su eficacia, se recomienda consultar al médico en caso de consumirse de forma concomitante con medicamentos.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires Afssa-Saisine N° 2007-SA-0231.
- BOE (2009). Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios. BOE 244 de 9 de octubre de 2009, pp: 85.370-85.378.
- Chen, J.K., Yeh, C.H., Wang, L.C., Liou, T.H., Shen, C.R. y Liu, C.L. (2011). Chitosán, the Marine Functional Food, Is a Potent Adsorbent of Humic Acid. *Mar. Drugs*, 9, pp: 2488-2498
- Deuchi, K., Kanauchi, O., Shizukuishi, M. and Kobayashi, E. (1995) Continuous and massive intake of chitosan affects mineral and fat-soluble vitamin status in rats fed on a high-fat diet. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 59, pp: 1.211-1.216.
- Deuchi, K., Kanauchi, O., Shizukuishi, M. y Kobayashi, E. (1995). Continuous and massive intake of chitosan affects mineral and fat-soluble vitamin status in rats fed on a high-fat diet. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 59, pp: 1.211-1.216.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to chitosan and reduction in body weight (ID 679, 1499), maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 4663), reduction of intestinal transit time (ID 4664) and reduction of inflammation (ID 1985) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9 (6), pp: 2.214.
- Huang, S.S., Sung, S.H. y Chiang, C.E. (2007). Chitosan potentiation of warfarin effect. *The Annals of Pharmacotherapy*, 41, pp: 1.912-1.914.
- Jeon, Y.J. y Kim, S.K. (2000). Production of chitooligosaccharides using an ultrafiltration membrane reactor and their antibacterial activity. *Carbohydrate Polymers*, 41, pp: 133-144.
- Jeon, Y.J., Park, P.J. y Kim, S.K. (2001). Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate Polymers*, 44, pp: 71-76.
- Jull, A.B., Mhurchu, C., Bennett, D.A., Dunshea-Mooij, C.A.E. y Rodgers, A. (2008). Chitosan for overweight or obesity. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2008, Issue 3 The Cochrane Collaboration. Published by John Wiley & Sons, Ltd.
- Kao, C.H., Hsiang, C.Y. y Ho, T.H. (2012). Assessment of Chitosan-Affected Metabolic Response by Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Bioluminescent Imaging-Guided Transcriptomic Analysis. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3319625/pdf/pone.0034969.pdf> [acceso: 27-11-12].
- Kato, Y., Yagami, A. y Matsunaga, K. (2005). A case of anaphylaxis caused by the health food chitosan. *Arerugi*, 54, pp: 1.427-1.429.
- Knorr, D. (1991). Recovery and utilisation of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technology*, 45, pp: 114-122.
- Mhurchu, C., Dunshea-Mooij, C.A., Bennett, D. y Rodgers, A. (2005). Chitosan for overweight or obesity. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, CD003892.
- Pinotti, A., Bevilacqua, A. y Zaritzky, N. (1997). Optimization of the flocculation state in a model system of a food emulsion waste using chitosan and polyelectrolyte. *Journal of Food Engineering*, 32, pp: 69-81.
- Rodrigues, M.R. y Oliveira, H.P. (2011). Use of chitosan in the treatment of obesity: evaluation of interaction with vitamin B2. *International Journal of Food Sciences and nutrition*, 62, pp: 195-199.
- Rodrigues, M.R. y Oliveira, H.P. (2012). Use of chitosan in the treatment of obesity: evaluation of interaction with vitamin B12. *International Journal of Food Sciences and nutrition*, 63 (5), pp: 548-552.
- Tual, C., Espuche, E., Escoubes, M. y Domard, A. (2000). Transport properties of chitosan membranes: Influence of crosslinking. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 38, pp: 1.521-1.529.

- Tapola, N.S., Lyyra, M.L., Kolehmainen, R.M., Sarkkinen, E.S. y Schauss, A.G. (2008). Safety aspects and cholesterol-lowering efficacy of chitosan tablets. *Journal of the American College of Nutrition*, 27, pp: 22-30.
- Vrzhesinskaia, O.A., Kodentsova, V.M., Beketova, N.A., Kosheleva, O.V. y Pereverzeva, O.G. (2011). The effect of various levels of chitosan in rat diet on vitamins assimilation under their combined deficiency. *Voprosy Pitania*, 80, pp: 56-61.
- Wada, M., Nishimura, Y., Watanabe, Y., Takita, T. y Innami, S. (1997). Accelerating effect of chitosan intake on urinary calcium excretion by rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 61, pp: 1.206-1.208.
- Yang, C.Y., Oh, T.W., Nakajima, D., Maeda, A., Naka, T., Kim, C.S., Igawa, S. y Ohta, F. (2002). Effects of habitual chitosan intake on bone mass, bone-related metabolic markers and duodenum CaBP D9K mRNA in ovariectomized SHRSP rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 48, pp: 371-378.

10.3 Fructooligosacáridos (FOS)

10.3.1 Propuesta

La AESAN propone una cantidad máxima diaria de 9 g de fructooligosacáridos (FOS) o de la suma de FOS más inulina, con la advertencia de que "un consumo excesivo puede causar malestar intestinal".

Esta propuesta se basa en la existencia de una evaluación favorable para los FOS en Francia, indicando que "un aporte diario de 8 g de la mezcla oligofruetosa enriquecida en inulina (4 g de oligofruetosa y 4 g de inulina) está exenta de riesgo y que no hay evidencia científica para oponerse a un aporte adicional de FOS a la dieta" (AFSSA, 2006, 2008). En Italia se autorizan fructooligosacáridos e inulina en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2012).

La propuesta ha sido consultada con la industria que señaló que la composición y efectos de los FOS y la inulina son similares y que a menudo se utilizan ambos en un mismo producto. Por ello está justificado proponer una cantidad máxima diaria para la suma de FOS e inulina.

Según el Real Decreto 867/2008 (BOE, 2008), por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación, pueden añadirse fructooligosacáridos y galactooligosacáridos a los preparados para lactantes. En tal caso, el contenido no debe ser superior a 0,8 g/100 ml de la combinación de 90 % de oligogalactosil lactosa y 10 % de oligofruetosil sacarosa.

10.3.2 Características y fuentes

Los fructooligosacáridos u oligosacáridos de fructosa son polímeros de fructosa con un grado de polimerización inferior a 10. Se pueden obtener por hidrólisis de la inulina, mediante la enzima inulinasa, denominándose en este caso oligofruetosas ($n=2$ a 9), o por *trans*-fructosilación por la enzima beta-fructosidasa, capaz de unir restos de fructosa a la molécula de sacarosa, siendo los productos resultantes los fructooligosacáridos (FOS). Cabe señalar que aunque estrictamente existe una denominación específica en función del origen, en muchas ocasiones ambos términos se utilizan como sinónimos. Los FOS pueden ir acompañados, al igual que en el caso de la inulina, una pequeña fracción de azúcares simples, como glucosa, fructosa o sacarosa, como compuestos secundarios de su obtención.

Los FOS son un tipo de fibra dietética soluble, de cadena corta y, por tanto, de bajo peso molecular, considerados desde 1995 por la Unión Europea como ingredientes alimenticios. En Europa se estima que el consumo medio de fructanos (inulina y/o FOS) por habitante se encuentra entre los 3 y 11 g por día, y en Estados Unidos, entre 1 y 4 g (Van Loo et al., 1995). Según el informe emitido por AFSSA (2008) su consumo medio estaría en torno a los 5 g al día.

Los FOS se utilizan como ingredientes y se incorporan en una gran variedad de alimentos, como productos lácteos, postres, panes, cereales, preparados de frutas, productos dietéticos, sustitutivos de comidas, productos cárnicos, etc. Sin embargo, no es posible el uso de FOS en alimentos ácidos con una vida útil larga, como refrescos o mermeladas de frutas, debido a que se hidrolizan lentamente liberando fructosa (Coussement, 1999).

Su adición a los alimentos se realiza, principalmente, para enriquecerlos en fibra con efectos prebióticos, o bien como agente de carga bajo en calorías. Se añade normalmente en cantidades entre 3 y 6 g por porción, aunque en casos excepcionales pueden llegar a los 10 g (Coussement, 1999). Cuando la adición

de este tipo de fibra, sola o enriquecida con inulina, se realiza para promover un efecto prebiótico, las cantidades utilizadas son del orden de entre el 1 y el 6 %, lo que representa entre 3 y 8 g por porción (Coussement, 1999).

En otras ocasiones los FOS se adicionan al alimento como sustitutos del azúcar. Las cadenas de oligómeros que forman los FOS poseen propiedades fisicoquímicas similares a las de la sacarosa o al jarabe de glucosa, aunque son más solubles y tienen un menor poder edulcorante que la sacarosa, aproximadamente del 30 al 50 % en comparación con el azúcar. Por tanto, es difícil utilizar sólo FOS como sustitutos del azúcar y frecuentemente se combinan con edulcorantes intensos para obtener el nivel de dulzor deseado.

10.3.3 Nutrición y metabolismo

Los FOS (al igual que la inulina) resisten la digestión enzimática en el tracto gastrointestinal superior para alcanzar, prácticamente intactos, el colon, donde son completamente fermentados por la microbiota colónica. La fermentación bacteriana de los FOS tiene lugar en la parte proximal del colon (a diferencia de la inulina que se metaboliza en la parte más distal) produciendo gases y ácidos orgánicos de cadena corta (láctico, acético, propiónico y butírico).

Una de las principales funciones de los FOS en el organismo es su efecto prebiótico, estimulando de forma selectiva el crecimiento y la actividad de diferentes especies de bifidobacterias. La mayoría de los estudios realizados para comprobar este efecto confirman un incremento significativo de las bifidobacterias respecto otras especies de la microbiota intestinal (Gibson et al., 1995) (Bouhnik et al., 1996) (Kleessen et al., 1997) (Kruse et al., 1999) (Bouhnik et al., 2007). Para alcanzar este efecto en adultos se requiere un consumo de entre 2,5 y 10 g al día de fibra (Kelly, 2008). Sin embargo, la respuesta interindividual a una misma dosis de esta fibra parece ser muy variable en términos de incremento de la población de bifidobacterias.

Otros estudios apuntan también efectos beneficiosos adicionales, como son la mejora del tránsito intestinal (Kleessen et al., 1997) (Coussement y Frank, 2001) (Kelly, 2008), el aumento en la absorción de calcio y otros minerales (Van den Heuvel et al., 1999) (Abrams et al., 2005) (Kelly, 2009), la mejora en el metabolismo de los lípidos circulantes (Meyer, 1999) (Van Dokkum et al., 1999) (Causey, 2000) (Kelly, 2009) y la prevención de ciertos tipos de cáncer (Koo y Rao, 1991) (Roland et al., 1994) (Delzenne et al., 1995) (Gallaher et al., 1996) (Taper et al., 1997).

En 2006 AFSSA, en base a estudios en animales experimentación y en humanos, aceptó la alegación de que "8 g/día de oligofruktosa enriquecida con inulina aumenta la absorción del calcio" aunque sólo bajo ciertas condiciones. Posteriormente, en 2011, EFSA emitió una opinión científica respecto a las declaraciones de salud relacionadas con los FOS (obtenidos por síntesis a partir de sacarosa) concluyendo que no se podía establecer una relación de causa-efecto entre el consumo de estos fructanos y un descenso de la microbiota intestinal patógena, cambios en la producción de ácidos grasos de cadena corta y pH en el tracto intestinal, cambios en la función intestinal, reducción de las molestias gastrointestinales, incremento en la absorción de calcio y/o magnesio, mantenimiento de las concentraciones normales de colesterol LDL en sangre, mantenimiento de las concentraciones normales de triglicéridos en sangre (EFSA, 2011).

La metabolización colónica de los FOS puede provocar malestar intestinal y efectos como flatulencia, incremento de la presión osmótica, distensión abdominal, diarrea, etc., a determinados segmentos de

población más sensibles. Estudios clínicos realizados por Rumessen y Gudmand-Hoyer (1998) concluyeron que los FOS, de cadena más corta y metabolizables en la parte más proximal del colon, están más relacionados con la aparición de efectos secundarios intestinales que la inulina (con un mayor grado de polimerización).

10.3.4 Seguridad

La seguridad de los FOS para su uso como ingrediente ha sido evaluada por las autoridades sanitarias de diversos países europeos y por Estados Unidos. Como resultado el uso de FOS como ingrediente se encuentra ampliamente aceptado sin ningún tipo de restricción en numerosas formulaciones alimentarias (Pascal, 2008). No se ha establecido una IDA para este tipo de sustancias y en los Estados Unidos desde 1992 se consideran sustancias GRAS (Kolbye et al., 1992).

Se han realizado diversos estudios de toxicidad aguda, crónica, carcinogenicidad y genotoxicidad en animales de experimentación, que han demostrado que los FOS, incluso a dosis altas, no tienen consecuencias en la mortalidad, la morbilidad, la toxicidad (sobre órganos diana, a nivel de desarrollo o reproducción) ni la carcinogenicidad (Takeda y Niizato, 1982) (Clevenger et al., 1988) (Carabin y Flamm, 1999) (Pascal, 2008). Igualmente, los estudios clínicos realizados con inulina y/o FOS, tanto en sujetos normales como en pacientes, coinciden en la seguridad de estos compuestos (Roberfroid, 1993) (Coussement, 1999) (Pascal, 2008).

En general se considera que el consumo de hasta 20 g de fructanos no produce efectos secundarios notables. Sin embargo, algunas personas experimentan síntomas del malestar intestinal después de la ingestión de pequeñas cantidades de estas fibras (Carabin y Flamm, 1999). Existe una amplia variabilidad interpersonal en las dosis a las que aparecen los efectos secundarios y depende también del alimento en el que se encuentre incorporada la fibra (Coussement, 1999). Según el estudio realizado por Cadranel y Coussement (1995) sobre la tolerancia de FOS en niños de entre 10 y 13 años, dosis de hasta 9 g al día procedentes de bebidas o productos de confitería no causan efectos secundarios.

El Comité Científico sobre la Alimentación Humana (SCF, 1997) reconoció que pueden presentarse efectos laxantes a dosis de FOS superiores a 32 g/día, pero que es poco probable que un consumo de hasta 20 g/día induzca algún efecto indeseable. Por encima de 30 g/día, aparecen flatulencias y las molestias digestivas pueden ser más intensas y dosis de 50 g/día producen dolor abdominal y diarrea (Briet et al., 1995). No obstante, en personas mayores de 60 años, se ha observado un aumento en los síntomas de malestar digestivo a dosis de 8 g/día de FOS (Bouhnik et al., 2007). En el caso de pacientes con el síndrome del intestino irritable se ha indicado que dosis diarias de 20 g de FOS provocan los síntomas de malestar intestinal durante los primeros días, pero los mismos se atenúan con un tratamiento continuado de 12 semanas (Olesen y Gudmand-Hoyer, 2000). Por el contrario, un estudio de suplementación con FOS (versus placebo) en pacientes con adenomas intestinales no evidenció ningún tipo de efecto intestinal adverso (Boutron-Ruault et al., 2005).

Para la obtención de FOS mediante hidrólisis enzimática a partir de la inulina se usa generalmente la enzima inulinasa, aislada de *Aspergillus niger*. Esta enzima es además ampliamente utilizada por la industria alimentaria, como por ejemplo para la obtención de zumos de frutas. JEFCA (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios) ha evaluado la seguridad de esta enzima concluyendo que

se trata de una sustancia segura para la que no cabe especificar IDA. Igualmente, en los Estados Unidos, la inulinasa de *Aspergillus niger* se considera una sustancia GRAS desde 1973. En 1990 en Dinamarca se ha evaluado también la seguridad de la inulinasa y se ha aceptado su uso para la producción de oligofruktosa.

EFSA, en 2004, en respuesta a una solicitud para evaluar la seguridad y la adecuación de la adición de FOS en dosis de 1,5 a 3 g/l a preparados para lactantes, concluyó que no había evidencia de beneficios en los lactantes atribuibles a la adición de FOS en las condiciones especificadas y que, por el contrario, no se podía descartar un cierto riesgo de aparición de cuadros de deshidratación debido a un incremento de la frecuencia de procesos diarreicos (EFSA, 2004).

10.3.5 Conclusión

Aunque en general los FOS suelen ser bien tolerados, incluso a dosis de 20 g/día, existe una amplia variabilidad interpersonal en las dosis a las que aparecen los efectos secundarios asociados a su fermentación colónica y algunas personas pueden sufrirlas con cantidades menores.

Se han realizado diferentes evaluaciones de la toxicidad de los FOS en modelos animales, incluyendo toxicidad aguda, crónica y carcinogénesis sin resultados que revelen un riesgo para la salud del consumidor. Los estudios clínicos realizados tampoco evidencian efectos tóxicos asociados al consumo de estos compuestos. Igualmente, la evaluación de la seguridad de la inulina en diferentes países ha concluido la ausencia de efectos indeseables asociados a su empleo como fuente de obtención de fructanos.

Por todo lo expuesto, el Comité Científico de la AESAN considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de una cantidad máxima diaria de fructooligosacáridos (FOS) de 9 g o de la suma de FOS más inulina también de 9 g, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Sin embargo, el Comité Científico de la AESAN aconseja que en los envases de complementos a base de FOS figuren las siguientes advertencias:

- No deben ingerirse cantidades diarias superiores a 9 g de FOS/día, o de la suma de FOS e inulina, ya que un consumo excesivo puede causar malestar intestinal.
- Cuando se tome este tipo de preparados se deben evitar otros complementos alimenticios a base de fibra dietética.
- Dado que la fibra puede tener interacciones con algunos medicamentos alterando su eficacia, se recomienda consultar al médico en caso de consumirse de forma concomitante con medicamentos.

Referencias

- Abrams, S.A., Griffin, I.J., Hawthorne, K.M., Liang, L., Gunn, S.K., Darlington, G. y Ellis, K.J. (2005). A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82, pp: 471-476.
- AFSSA (2006). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Saisine N° 2005-SA-0438 de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des justificatifs concernant les allégations: «8g/j d'oligofruktose enrichi en inuline augmentent l'absorption de calcium» et «8g/j d'oligofruktose enrichi en inuline augmentent la densité en calcium de l'os». Maisons-Alfort, le 23 novembre 2006.

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Saisine N° 2007-SA-0231 de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Maisons-Alfort, le 8 septembre 2008.
- BOE (2008). Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la RTS específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación. BOE 131 de 30 de mayo de 2008, pp: 25.121-25.137.
- Bouhnik, Y., Flourie, B. y Riottot, M. (1996). Effects of fructo-oligosaccharides ingestion on fecal Bifidobacteria and selected metabolic indexes of colon carcinogenesis in healthy humans. *Nutrition and Cancer*, 26, pp: 21-29.
- Bouhnik, Y., Achour, L., Paineau, D., Riottot, M., Attar, A. y Bornet, F. (2007). Four-week short chain fructo-oligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidobacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers. *Nutrition Journal*, 6, pp: 1-42.
- Boutron-Ruault, M.C., Marteau, P., Lavergne-Slove, A., Myara, A., Gerhardt, M.F., Franchisseur, C. y Bornet, F. (2005). Effects of a 3-mo consumption of short-chain fructo- oligosaccharides on parameters of colorectal carcinogenesis in patients with or without small or large colorectal adenomas. *Nutrition and Cancer*, 53, pp: 160-168.
- Briet, F., Achour, L., Flourie, B., Beaugerie, L., Pellier, P., Franchisseur, C., Bornet, F. y Rambaud, J.C. (1995). Symptomatic response to varying levels of fructo-oligosaccharides consumed occasionally or regularly. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49, pp: 501-507.
- Cadranel, S. y Coussement, P. (1995). Tolerance study with oligofructose for school children. Proceedings of First Orafit Research Conference. Hospital Universitaire des Enfants Reine Fabiola.Brussels, Belgium.
- Carabin, I.G. y Flamm, W.G. (1999). Evaluation of Safety of Inulin and Oligofructose as Dietary Fiber. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 30, pp: 268-282.
- Causey, J.L., Feirtag, J.M., Gallaher, D.D., Tunglund, B.C. y Slavin, J.L. (2000) Effect of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. *Nutrition Review*, 20, pp: 191-201.
- Clevenger, M. A., Turnbull, D., Inoue, H., Enomoto, M., Allen, J.A., Henderson, L.M. y Jones, E. (1988). Toxicological evaluation of neosugar: genotoxicity, carcinogenicity and chronic toxicity. *Journal of the American College of Toxicology*, 7, pp: 643-662.
- Coussement, P.A.A. (1999). Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. *The Journal of Nutrition*, 129, pp: 1.412S-1.417S.
- Coussement, P. y Frank, A. (2001). Inulin and Oligofructose. En libro: *Handbook of dietary Fiber*. Ed. Sungsoo Cho, S. y Dreher, M.L. Marcel Dekker, Inc. NY.
- Delzenne, N., Aertssens, J., Verplaetse, N. y col. (1995). Effect of fermentable fructo-oligosaccharides on energy and nutrients absorption in the rat. *Life Science*, 57, pp: 1.579-1.587.
- EFSA (2004). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion relating to the safety and suitability for particular nutritional use by infants of fructooligosaccharides in infant formulae and follow-on formulae. *The EFSA Journal*, 31, pp: 11.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to fructooligosaccharides (FOS) from sucrose and decreasing potentially pathogenic gastro-intestinal microorganisms (ID 774), changes in short chain fatty acid (SCFA) production and pH in the gastro- intestinal tract (ID 775), changes in bowel function (ID 775, 778), reduction of gastrointestinal discomfort (ID 775, 778), increase in calcium and/or magnesium absorption leading to an increase in magnesium and/or calcium retention (ID 776, 777), maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 805) and maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 805) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9 (4), pp: 2.023.
- Gallagher, D., Stallings, W., Blessing, L., Busta, F. y Brady, L. (1996). Probiotics, cecal microflora and aberrant crypts in the rat colon. *Journal of Nutrition*, 126, pp: 1.362-1.371.
- Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X. y Cummings, J.H. (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108, pp: 975-982.

- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiologico impiegabili negli integratori alimentari. Disponibile en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [27-11-12].
- Kelly, G. (2008). Inulin-Type Prebiotics: A review (Part 1). *Alternative Medicine Review*, 13 (4), pp: 315-329.
- Kelly, G. (2009). Inulin-Type Prebiotics: A review (Part 2). *Alternative Medicine Review*, 14 (1), pp: 36-55.
- Kleessen, B., Sykura, B., Zunft, H.J. y Blaut, M. (1997). Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65, pp: 1.397-1.402.
- Koo, M. y Rao, V. (1991). Long-term effect of bifidobacteria and Neosugar on precursor lesions of colonic cancer in cfl mice. *Nutrition and Cancer*, 16, pp: 249-257.
- Kolbye, A.C., Blumenthal, H., Bowman, B., Byrne, J., Carr, C.J., Kirschman, J.C., Roberfroid, M.B. y Weinberger, M.A. (1992). Evaluation of the Food Safety Aspects of Inulin and Oligofructose-GRAS Determination. Orafti internal report. Orafti, Tienen, Belgium.
- Kruse, H.P., Kleessen, B. y Blaut, M. (1999). Effects of inulin on faecal bifidobacteria in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 82, pp: 375-382.
- Meyer, P.D. (1999). A prebiotic ingredient with a heart. *Ingredients Health & Nutrition*, 2, pp: 26-27.
- Olesen, M. y Gudmand-Hoyer, E. (2000). Efficacy, safety, and tolerability of fructooligosaccharides in the treatment of irritable bowel syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72, pp: 1.570-1.575.
- Pascal, G. (2008). Prebiotics and Food Safety. En libro: Handbook of probiotics. Gibson G.R, Roberfroid, M. Ed. Taylor & Francis Group, LLC. Boca Raton. Florida.
- Roberfroid, M. (1993). Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33, pp: 103-148.
- Roland, N., Nugon-Baudon, L., Flinois, J. y Beaune, P. (1994) Hepatic and intestinal cytochrome P-450, glutathione-S-transferase and UDP-glucuronosyl transferase are affected by six types of dietary fiber in rats inoculated with human whole fecal flora. *Journal of Nutrition*, 124, pp: 1.581-1.587.
- Rumessen, J.J. y Gudmand-Hoyer, E. (1998). Fructans of chicory: intestinal transport and fermentation of different chain lengths and relation to fructose and sorbitol malabsorption. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, pp: 357-364.
- SCF (1997). Scientific Committee on Food. Opinions on Actilight-A fructo oligosaccharide (FOS). Disponible en: <http://aei.pitt.edu/mwg-internal/de5fs23hu73ds/progress?id=wYABSByK+p&dl> [acceso: 27-11-12].
- Takeda, U. y Niizato, T. (1982). Acute and subacute safety tests. En libro: Proc. 1st Neosugar Research Conference. Incorporated Foundation Academic Journal Publication Center, Tokyo, Japan.
- Taper, H.S., Delzenne, N. y Roberfroid, M. (1997). Growth inhibition of transplantable mouse tumors by non-digestible carbohydrates. *International Journal of Cardiology*, 71, pp: 1.109-1.112.
- Van den Heuvel, E.G., Muys, T., van Dokkum, W. y Schaafsma, G. (1999). Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69, pp: 544-548.
- Van Dokkum, W., Wezendonk, B., Srikumar, T.S. y van den Heuvel, E.G. (1999). Effect of nondigestible oligosaccharides on large-bowel functions, blood lipid concentrations and glucose absorption in young healthy male subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53, pp: 1-7.
- Van Loo, J., Coussement, P., De Leenheer, L., Hoebregs, H. y Smits, G. (1995). On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, pp: 525-552.

10.4 Galactooligosacáridos (GOS)

10.4.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión de los galactooligosacáridos (GOS) en el Real Decreto 1487/2009 sin indicación de cantidad máxima diaria (BOE, 2009).

En Italia los GOS están autorizados en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2012).

10.4.2 Características y fuentes

Los galactooligosacáridos (GOS) son una mezcla de di- a octosacáridos formados por 1 a 7 unidades de galactosa unidas al extremo reductor de la molécula de glucosa. En los preparados de GOS el trisacárido O- β -D-galactopiranosil-(1-4)-O- β -D-galactopiranosil-(1-4)- β -D-glucosa es el principal sacárido. Los pesos moleculares de los oligosacáridos individuales oscilan entre 342 (disacárido) y 1.315 (octosacárido) daltons. El peso molecular medio de la fracción GOS es de 522,28 daltons (FDA, 2008).

Los GOS se producen por la acción sobre la lactosa de las beta-galactosidasas con actividad de *trans*-galactosilación. Las uniones glicosídicas entre dos unidades de galactosa son principalmente uniones del tipo β (1-4) (como 4'-galactosil-lactosa, 4'-GOS) cuando se usan las beta-galactosidasas derivadas de *Bacillus circulans* (Mozaffar et al., 1984) o de *Cryptococcus laurentii* (Ozawa et al., 1989), y del tipo β (1-6) (como 6'-galactosillactosa, 6'-GOS) cuando se usan los enzimas derivados de *A. oryzae* o *Streptococcus thermophilus* (Matsumoto, 1990). Normalmente más del 55 % de la lactosa que se emplea como sustrato se convierte en GOS (Ishikawa et al., 1995) (Pérez-Conesa et al., 2004). El tipo de uniones (β (1-4) o β (1-6)) y por tanto la fuente microbiana de beta-galactosidasa, que las genera, influye en la utilización del sustrato por las bacterias intestinales (Depeint et al., 2008).

Los GOS se han utilizado durante las cuatro últimas décadas como ingredientes alimentarios en Europa y Japón (Crittenden y Payne, 1996) (Sako et al., 1999) (Nakakuki, 2003). En 2003 la producción anual de GOS en el mundo era de alrededor de 15.000 tm, y sólo en Japón la demanda anual se estimaba en 6.500 tm (Nakakuki, 2003).

La ingesta de oligosacáridos con la dieta es difícil de estimar, aunque se considera que la contribución de los alimentos usuales es baja. Incluye oligofruktosas de frutas, vegetales y cereales y oligosacáridos, obtenidos por procesos de biosíntesis a partir de azúcares o de hidrólisis de polisacáridos, que se añaden a los alimentos para modificar sus propiedades nutritivas o sus características organolépticas. Los derivados lácteos en cuya elaboración se utilizan beta-galactosidasas para disminuir el contenido de lactosa, con el fin de hacerlos adecuados para las personas con intolerancia a la lactosa, contienen pequeñas cantidades de GOS. Delzenne (2003) señala que la ingesta de fructooligosacáridos puede oscilar entre 3 y 13 g/persona/día dependiendo de la población. En Australia y Nueva Zelanda han estimado la ingesta media y la ingesta en el percentil 95 de derivados de la inulina y oligosacáridos GOS en la población infantil (FSANZ, 2008). En niños de 9 meses de edad se estima una ingesta de 5 y 12 g/persona/día, respectivamente, aumentando a 17 y 42 g/persona/día en niños de 1 a 3 años; antes del destete la ingesta de GOS y de derivados de la inulina en niños es nula (FSANZ, 2008).

El Panel NDA de EFSA, al evaluar las solicitudes de declaración de propiedades saludables considera que el componente de los alimentos GOS objeto de las declaraciones está suficientemente caracterizado.

Situación legal

Los galactooligosacaridos (GOS) se consideran GRAS para su uso como ingredientes de fórmulas para lactantes a una concentración de 5 g/l, así como en otros tipos de alimentos (leche, yogures, postres helados, etc.) (FDA, 2008).

Los GOS obtenidos a partir de la lactosa vía beta-galactosidasa aislada de *B. circulans*, que cumple con las especificaciones de grado alimentario y se ha obtenido aplicando las buenas prácticas de fabricación, es GRAS para los usos solicitados en preparados para lactantes y fórmulas de continuación. Los GOS que se utilizan en fórmulas infantiles y que se consideran GRAS son mayoritariamente 4'-galactooligosacáridos (FDA, 2009).

10.4.3 Nutrición y metabolismo

El tracto digestivo humano puede hidrolizar los polímeros de glucosa con enlaces alfa-glicosídicos como el almidón y el glucógeno; sin embargo, los azúcares de la dieta unidos por enlaces beta-glicosídicos no se digieren en grado significativo en el lumen intestinal (Wisker et al., 1985). La fibra no digerida llega al colon donde es fermentada por la microbiota produciéndose H₂, CO₂, CH₄ y ácidos grasos de cadena corta.

Los GOS no son hidrolizados por la amilasa salivar humana, la alfa-amilasa pancreática de cerdo ni el jugo gástrico artificial (Ohtsuka et al., 1990) (Chonan et al., 2004). Tampoco se hidrolizan cuando se incuban con jugo pancreático humano y membranas del borde en cepillo (Engfer et al., 2000).

Los estudios relativos a la absorción, metabolismo y excreción de GOS en humanos son escasos. Se han detectado oligosacáridos de la dieta en heces de lactantes (n=6) a los que, durante las dos primeras semanas de vida y por un período de 28 días, se suministraron fórmulas enriquecidas con GOS:FOS (8 g/l; relación 9:1; 5 g/kg p.c.), mientras que no se encontraron en las heces del grupo control (Moro et al., 2005).

Estudios en humanos que apoyan la no digestibilidad de los GOS

Tras administrar a cinco voluntarios sanos 0,5 g GOS/kg p.c. se comprobó que en un período de 4 horas las concentraciones de hidrógeno en el aire espirado eran superiores a los niveles basales, lo que indica la fermentación de cantidades significativas de GOS por las bacterias gastrointestinales (Tanaka et al., 1983). De igual modo se determinó el hidrógeno en el aire espirado por 16 personas sanas a las que administraron una mezcla de GOS por vía oral, obtenida a partir de lactosa por una reacción de transgalactosilación de células *Sporobolomyces singularis* y beta-galactosidasa de *Kluyveromyces lactis*. La eliminación de hidrógeno, entre 1,5 y 8 horas postprandial, fue significativamente mayor en los sujetos que ingirieron GOS respecto al grupo control (Chonan et al., 2004).

10.4.4 Seguridad

El Comité Científico de la Comisión Europea sobre la Alimentación Humana revisó el uso de GOS como ingrediente de los preparados para lactantes y fórmulas de continuación concluyendo que la inclusión de hasta 8 g/l de una mezcla (90:10) de oligogalactosil-lactosa (GOS) y oligofructosil-sacarosa (procedente de inulina) de elevado peso molecular a dichos productos es segura (SCF, 2003). A la misma conclusión llegó el *Food Standards Australia New Zealand* (FSANZ) al evaluar la seguridad de la adición de GOS y

sustancias procedentes de la inulina a preparados para lactantes y fórmulas de seguimiento (FSANZ, 2008).

El uso de GOS en fórmulas para lactantes a concentraciones de hasta 5g/l se ha notificado a la FDA de los Estados Unidos, sin recibir objeción alguna por parte de la Agencia (FDA, 2008).

Estudios de toxicidad

En animales

- Toxicidad aguda. Se ha señalado que en ratas, la DL_{50} de los GOS administrados por vía oral es superior a 15 g GOS/kg p.c.; aunque no se dispone de información relativa al diseño del estudio (Matsumoto et al., 1993).
- Toxicidad a corto plazo y toxicidad subcrónica. En un estudio realizado en ratas *Sprague-Dawley* de 6 semanas de edad durante 3 meses, a las que administraron 2.500 o 5.000 mg GOS/kg p.c./día, no se observaron efectos adversos significativos atribuibles a los GOS, estableciendo un NOAEL de 5.000 mg/kg p.c./día (Anthony et al., 2006).

En humanos

Diecinueve estudios, diecisiete de ellos en adultos y otros dos en niños tras el destete proporcionan información de interés para la evaluación de la seguridad de los GOS. Aunque no era el objetivo de ninguno de ellos, contienen parámetros relacionados con la tolerancia (flatulencia, hinchazón, retortijones abdominales etc.), junto a la monitorización de efectos adversos. La mayoría de estos estudios se han llevado a cabo en adultos sanos, con ingestas de GOS comprendidas entre 5 y 15 g/persona/día, durante períodos de 1 a 3 semanas. Aunque también hay estudios con ingestas de 20 a 30 g GOS/día (Tanaka et al., 1983) (Van den Heuvel et al., 2000).

En tres estudios se mencionan ingestas de GOS comprendidas entre 5,5 y 10 g/día que se toleran bien, sin efectos adversos en períodos comprendidos entre 1 y 2,5 meses (Ito et al., 1990) (Shadid et al., 2007) (Silk et al., 2008) (Vulevic et al., 2008).

Desde hace algunos años se utilizan ampliamente en Europa las fórmulas para lactantes enriquecidas con GOS y FOS. Los efectos del consumo a largo plazo de leche enriquecida con GOS se estudiaron en 634 niños de 1 a 3 años de edad, seleccionados de una población periurbana del sur de Delhi. Se aleatorizaron en dos grupos que recibieron diariamente durante 1 año leche no enriquecida o enriquecida con GOS (2,4 g/100 g) y *Bacillus lactis* HN019 (de 10^7 a 10^8 ufc/100 g). Durante el estudio se evaluó el estado general de salud, crecimiento, estado en hierro y diferentes parámetros hematológicos. Los niños que tomaban la leche enriquecida con GOS mostraron mejor crecimiento a los 6 y a los 12 meses, y mejoraron su estado nutricional en hierro, también disminuyó la incidencia de diarrea sanguinolenta, pero no el número de casos de diarrea (Sazawal et al., 2004).

En términos generales en los estudios publicados hasta el momento no se mencionan efectos adversos atribuibles al consumo de GOS. Sólo se ha señalado la flatulencia como efecto secundario, cuando los GOS se consumen de forma repetida en cantidades comprendidas entre los 10 y los 15 g (Ito et al., 1990) (Deguchi et al., 1997) (Teuri et al., 1998) (Alles et al., 1999) aunque este efecto no se menciona de forma sistemática en todos los estudios que utilizan estas dosis (Bouhnik et al., 1997) (Teuri et al., 1998) (Van

Dokkum et al., 1999) (Bouhnik et al., 2004) (Shadid et al., 2007). Dado que también se han hecho observaciones similares de aumento de la flatulencia tras el consumo de 15 g de fructooligosacáridos durante un período de 7 días (Alles et al., 1996), se considera que se trata de un efecto esperable asociado al consumo de fibra no digerible en elevadas cantidades.

10.4.5 Conclusión

En la bibliografía no se mencionan efectos adversos atribuibles al consumo de GOS, salvo un posible aumento de flatulencia cuando se consumen a dosis muy elevadas. Se ha descrito un NOAEL en ratas *Sprague-Dawley* de 5.000 mg/kg p.c./día.

El Comité Científico de la Comisión Europea sobre la Alimentación Humana (SCF, 2003) considera seguro el uso de GOS como ingrediente de los preparados para lactantes y fórmulas de continuación a concentraciones de hasta 8 g/l de una mezcla (90:10) de oligogalactosil-lactosa (GOS) y oligofructosil-sacarosa (procedente de inulina).

Referencias

- Alles, M.S., Hautvast, J.G., Nagengast, F.M., Hartemink, R., Van Laere, K.M.J. y Jansen, J.B. (1996). Fate of fructo-oligosaccharides in the human intestine. *British Journal of Nutrition*, 76 (2), pp: 211-221.
- Alles, M.S., Hartemink, R., Meyboom, S., Harryvan, J.L., Van Laere, K.M.J., Nagengast, F.M. y Hautvast, J.G. (1999). Effect of transgalactooligosaccharides on the composition of the human intestinal microflora and on putative risk markers for colon cancer. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69 (5), pp: 980-991.
- Anthony, J.C., Merriman, T.N. y Heimbach, J.T. (2006). 90-Day oral (gavage) study in rats with galactooligosaccharides syrup. *Food Chemical Toxicology*, 44 (6), pp: 819-826.
- Bouhnik, Y., Flourie, B., D'Agay-Abensour, L., Pochart, P., Gramet, G., Durand, M. y Rambaud, J.C. (1997). Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *Journal Nutrition*, 127 (3), pp: 444-448.
- BOE (2009). Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios. BOE 244 de 9 de octubre de 2009, pp: 85.370-85.378.
- Bouhnik, Y., Raskine, L., Simoneau, G., Vicaut, E., Neut, C., Flourie, B., Brouns, F. y Bornet, F.R. (2004). The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose response relation study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80 (6), pp: 1.658-1.664.
- Chonan, O., Shigehara-Sone, H., Takahashi, R., Ikeda, M., Kikuchi-Hayakawa, H., Ishikawa, F., Kimura, K. y Matsumoto, K. (2004). Undigestibility of galactooligosaccharides. *Nihon Shokuhin Kagaku Kogakkaishi*, 51 (1), pp: 28-33.
- Crittenden, R.G. y Payne, M.J. (1996). *Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides Trends in Food Science and Technology*, 7, pp: 353-362.
- Deguchi, Y., Matsumoto, K., Watanuki, M. e Ito, A. (1997). Effects of 131-4 galactooligosaccharides administration on defecation of healthy volunteers with constipation tendency. *Eiyogaku Zasshi*, 55 (1), pp: 13-22.
- Delzenne, N.M. (2003). Oligosaccharides: state of the art. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62 (1), pp: 177-182.
- Depeint, F., Tzortzis, G., Vulevic, J., l'Anson, K. y Gibson, G.R. (2008). Prebiotic evaluation of a novel galactooligosaccharide mixture produced by the enzymatic activity of *Bifidobacterium bifidum* NCIM 41 171, in healthy humans: a randomized, double-blind, cross-over, placebo-controlled intervention study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87 (3), pp: 785-791.
- Engfer, M.B., Stahl, B., Finke, B., Sawatzki, G. y Daniel, H. (2000). Human milk oligosaccharides are resistant to enzymatic hydrolysis in the upper gastrointestinal tract. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (6), pp: 1.589-1.596.
- FDA (2008). Food and Drug Administration. Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000236. Disponible en:

<http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/GRASListings/ucm153910.htm> [acceso: 27-11-12].

- FDA (2009). Food and Drug Administration. GRAS Notice for Galactooligosaccharide - infant Formula Galactooligosaccharide GRAS Notice Infant Formula and Follow-on Formula grn 000286.
- FSANZ (2008). Food Standards Australia New Zealand. Final Assessment report proposal P306. Addition of Inulin/FOS & GOS to Food. Food Standards Australia New Zealand (FSANZ), Canberra, Australia. Disponible en: http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/P306%20FOS%20&%20GOS%20FAR%20FINALv2.pdf [acceso: 27-12-12].
- Ishikawa, F., Takayama, H., Matsumoto, K., Ito, M., Chonan, O., Deguchi, Y., Kikuchi-hayakawa, H. y Watanuki, M. (1995). Effects of b1-4 linked galactooligosaccharides on human fecal microflora. *Bifidus*, 9, pp: 5-18.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiologico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 27-11-12].
- Ito, M., Deguchi, Y., Miyamori, A., Matsumoto, K., Kikuch, H., Matsumoto, K., Kobayashi, Y., Yajima, T. y Kan, T. (1990). Effects of administration of galactooligosaccharides on the human fecal microflora, stool weight and abdominal sensation. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 3 (6), pp: 285-292.
- Matsumoto, K. (1990). Characterization and utilization of b-galactosidases from lactobacilli and bifidobacteria. *Japanese Journal of Dairy and Food Science*, 39, pp: 239-248.
- Matsumoto, K., Kobayashi, Y., Ueyama, S., Watanabe, T., Tanaka, R., Kan, T., Kuroda, A. y Sumihara, Y. (1993). Galactooligosaccharides. In: Nakakuki, T. (Ed.). Oligosaccharides: Production, Properties and Application. Gordon and Breach Science Publishers; Tokyo. *Japanese Technology Reviews*, 3, pp: 90-106.
- Moro, G.E., Stahl, B., Fanaro, S., Jelinek, J., Boehm, G. y Coppa, G.V. (2005). Dietary prebiotic oligosaccharides are detectable in the faeces of formula-fed infants. *Acta Paediatrica Supplements*, 94 (449), pp: 27-30.
- Mozaffar, Z., Nakanishi, K., Matsuno, R. y Kamikuro, T. (1984). Purification and properties of b-galactosidases from *Bacillus circulans*. *Agricultural Biology and Chemistry*, 48, pp: 3.035-3.061.
- Nakakuki, T. (2003). Development of functional oligosaccharides in Japan. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology* 82, pp: 57-64.
- Ohtsuka, K., Tsuji, K., Nakagawa, Y., Ueda, H., Ozawa, O., Uchida, T. y Ichikawa, T. (1990). Availability of 4'galactosyllactose (0-p-D-galactopyranosyl-(1-4)-0-p-Dgalactopyranosyl-(1+4)-D-glucoopyranose) in rat. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 36 (3), pp: 265-276.
- Ozawa, O., Ohtsuka, K., Uchida, R. (1989). Production of 4' galactosyllactose by mixed cells of *Cryptococcus laurentii* and baker's yeast. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 36, pp: 898-902.
- Pérez-Conesa, D., López, G. y Ros, G. (2004). Principales prebióticos y sus efectos en la alimentación humana. *Anales de Veterinaria*, 20, pp: 5-20.
- Sako, T., Matsumoto, K. y Tanaka, R. (1999). Recent progress on research and applications of nondigestible galactooligosaccharides. *International Dairy Journal*, 9, pp: 69-80.
- Sazawal, S., Dhingra, U., Sarkar, A., Dhingra, P., Deb, S., Marwah, D., Menon, V.P., Kumar, J. y Black, R.E. (2004). Efficacy of milk fortified with a probiotic *Bifidobacterium lactis* (DR-1 OTM) and prebiotic galacto-oligosaccharides in prevention of morbidity and onnutritional status. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13, pp: S28.
- SCF (2003). Scientific Committee on Food. Report of the Scientific Committee on Food (SCF) on the Revision of Essential Requirements of Infant Formulae and Follow-on Formulae (adopted on 4 April 2003). Scientific Committee on Food (SCF), European Commission, Health & Consumer Protection Directorate-General, Scientific Committee on Food; Brussels, Belgium. SCF/CN/ N UTA F/65 Final. Disponible en: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out199_en.pdf [acceso: 27-11-12].
- Shadid, R., Haarman, M., Knol, J., Theis, W., Beermann, C., Rjosk-Dendorfer, D., Schendel, D.J., Koletzko, B.V. y Krauss-Etshmann, S. (2007). Effects of galactooligosaccharide and long-chain fructooligosaccharide supplementation during pregnancy on maternal and neonatal microbiota and immunity--a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 86 (5), pp: 1.426-1.437.
- Silk, D.B., Davis, A., Vulevic, J., Tzortzis, G. y Gibson, G.R. (2008). Clinical trial: the effects of a trans-galactooligosac-

- charide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 29 (5), pp: 508-518.
- Tanaka, R., Takayama, H., Morotomi, M., Kuroshima, T., Ueyama, S., Matsumoto, K., Kuroda, A. y Mutai, M. (1983). Effects of administration of GOS and *Bifidobacterium breve* 4006 on the human fecal flora. *Bifidobacteria Microflora* 2 (1), pp: 17-24.
- Teuri, U., Korpela, R., Saxelin, M., Montonen, L. y Salminen, S. (1998). Increased fecal frequency and gastrointestinal symptoms following ingestion of galacto-oligosaccharide containing yogurt. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 44 (3), pp: 465-471.
- Van den Heuvel, E.G.H.M., Schoterman, M.H.C. y Muijs, T. (2000). Transgalactooligosaccharides stimulate calcium absorption in postmenopausal women. *Journal of Nutrition*, 130, pp: 2.938-2.942.
- Van Dokkum, W., Wezendonk, B., Srikumar, T.S. y van den Heuvel, E.G.H.M. (1999). Effect of nondigestible oligosaccharides on large-bowel functions, blood lipid concentrations and glucose absorption in young healthy male subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53 (1), pp: 1-7.
- Vulevic, J., Drakoularakou, A., Yaqoob, P., Tzortzis, G. y Gibson, G.R. (2008). Modulation of the fecal microflora profile and immune function by a novel trans-galactooligosaccharide mixture (6-GOS) in healthy elderly volunteers. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88 (5), pp: 1.438-1.446.
- Wisker, E., Feldheim, W., Pomeranz, Y. y Meuser, F. (1985). Dietary fibre in cereals. In: Pomeranz, Y. (Ed.). En libro: *Advances in Cereal Science and Technology*. American Association of Cereal Chemists; St. Paul, Minn., Vol. VII, pp: 169-238.

10.5 Glucomanano de konjac (*Amorphophallus konjac* K. Koch)

10.5.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión del glucomanano de konjac en el Real Decreto 1487/2009 (BOE, 2009) en una cantidad máxima diaria de 4 g/día y con la advertencia de "no usar en alimentos destinados a rehidratarse en el momento de la ingestión". Dicha propuesta está basada en la autorización en complementos alimenticios en Dinamarca, Bélgica e Italia.

En Dinamarca el glucomanano de konjac está autorizado en complementos alimenticios en una cantidad total máxima que no debe superar los 5 g por dosis diaria con la advertencia de "no usar en alimentos destinados a rehidratarse en el momento de la ingestión" (Dinamarca, 2011). En Bélgica y en Italia están autorizados en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Bélgica, 1992) (Italia, 2012).

Además, existen dos declaraciones de propiedades saludables autorizadas para el glucomanano de konjac derivadas de dos opiniones positivas de EFSA en las que se establece que queda aprobado que el glucomanano de konjac a una dosis de 4 g al día contribuye a mantener unos niveles normales de colesterol sanguíneo y a dosis de 3 g divididas en tres dosis de 1 g junto con uno o dos vasos de agua antes de las comidas, ayuda a adelgazar cuando se sigue una dieta baja en calorías (EFSA, 2010).

10.5.2 Características y fuentes

El glucomanano konjac procede de las raíces tuberosas del konjac (*Amorphophallus konjac* K. Koch). Su estructura es la de un polisacárido de elevado peso molecular (200-2.000 kDa), que depende de la variedad de konjac, el método de preparación e incluso del tiempo de almacenamiento sin procesar. Está formado por una cadena lineal de unidades D-manosa y D-glucosa en una relación de 1,6:1 unidas por enlaces β -(1 \rightarrow 4) glicosídicos, con una pequeña fracción/porción ramificada (8 %) mediante uniones β -(1 \rightarrow 6)-glucosil, y al azar grupos acetilo en una relación de alrededor de un grupo por 9 a 19 unidades de azúcar. Los grupos acetilo contribuyen a la solubilidad y a las propiedades gelificantes, su eliminación mediante hidrólisis alcalina suave proporciona geles estables al calor. Se trata de una fibra hidrosoluble similar a la pectina en su estructura y función, que proporciona una elevada viscosidad al agua.

Se utiliza como aditivo alimentario emulgente y espesante, y también como complemento alimenticio, suficientemente caracterizado.

10.5.3 Nutrición y metabolismo

La goma konjac es un hidrocoloide soluble en agua que se obtiene de las raíces de la planta perenne *Amorphophallus konjac* cultivada en países asiáticos. Si bien no es un componente intrínseco de los alimentos que componen la dieta occidental, durante siglos se ha utilizado como alimento tradicional, en la fabricación de geles y fideos, en países del lejano oriente (China y Japón).

El uso de la goma konjac se ha propuesto como gelificante, espesante, emulgente y estabilizante alimentario, por ejemplo: pasta, productos horneados, embutidos, aderezos para la ensalada, helados, postres, mermeladas, mayonesa, sopas y bebidas. Se propone su uso a concentraciones que oscilan entre el 0,01 y el 2,0 % (SCF, 1997). Su uso como aditivo alimentario proporciona una ingesta estimada de unos

3 g/persona/día. Su consumo como componente de alimentos tradicionales de Japón y China puede dar lugar a ingestas de hasta 4 g/persona/día (SCF, 1997).

Además, no se ha esclarecido en qué grado el principal componente glucomanano se digiere en el intestino humano. No parece ser digerible por los enzimas del tracto intestinal humano, pero es susceptible de fermentación por la microflora del colon, aunque no se ha demostrado de forma clara en qué grado (SCF, 1997). En cuanto a la declaración de propiedad saludable relacionada con el mantenimiento de las concentraciones normales de colesterol en sangre, EFSA indica que se deben ingerir al menos 4 g diarios de glucomanano, siendo la población diana toda la población en general (EFSA, 2009).

El Panel NDA de EFSA ha evaluado favorablemente una declaración de propiedad saludable relativa al glucomanano en cuanto al mantenimiento de las concentraciones normales de colesterol en sangre, y a favorecer la pérdida de peso corporal en el contexto de una dieta de restricción energética (EFSA, 2010). Para conseguir el efecto EFSA indica que se deben ingerir como mínimo 3 g diarios de glucomanano, a dosis de 1 g ingerido junto a 1-2 vasos de agua antes de las comidas. La población diana para el glucomanano son personas con sobrepeso que siguen una dieta hipocalórica.

Sin embargo el Panel no evidencia relación causa-efecto entre el consumo de glucomanano y: 1) la disminución de la respuesta glicémica postprandial; 2) el mantenimiento de concentraciones normales de glucosa en sangre; 3) el mantenimiento de concentraciones normales de triglicéridos en sangre; 4) el mantenimiento de la función intestinal normal; 5) la disminución de microorganismos potencialmente patogénicos.

10.5.4 Seguridad

Situación Legal

El uso de glucomanano como aditivo alimentario está autorizado en Europa y se denomina E-425. En España, en el Real Decreto 142/2002, el E-425 (konjac, goma konjac y glucomananos de konjac) se incluye en el grupo de "Emulgentes, estabilizadores, espesantes y gelificantes" (BOE, 2002). En alimentos se permite el uso de E-425 konjac y E-425 goma konjac, de forma aislada o en combinación a una dosis máxima 10 g/kg de alimento (excepto en los alimentos contemplados en el artículo 3.3. de dicho Real Decreto). En este Real Decreto se señala que no podrán utilizarse en productos alimenticios deshidratados que se rehidratan al ingerirlos, ni en los artículos de confitería a base de gelatina, incluidas las minicápsulas de gelatina. El E-425 también se incluye en el grupo de soportes y disolventes permitidos en alimentación.

En Canadá también está autorizado el uso de glucomanano konjac como ingrediente alimentario (Health Canada, 2012).

En Estados Unidos la FDA califica la harina konjac como sustancia GRAS para uso como ingrediente alimentario y está incluido en la cuarta edición del *Food Chemical Codex* (FCC, 1996).

En Dinamarca el uso de glucomanano de konjak se autoriza en complementos alimenticios en una cantidad total máxima que no debe superar los 5 g/día.

El Comité Científico sobre la Alimentación Humana (SCF, 1997) emitió una opinión sobre la seguridad en el uso de glucomanano konjac como aditivo alimentario (emulgente, estabilizante y gelificante) en productos horneados, derivados de carne y pescado, pasta, mermeladas y sopas. Este Comité sugiere su utilización a concentraciones que oscilan entre el 0,01 y el 2,0 %, en función del alimento considerado,

y una ingesta diaria de unos 4 g se considera realista por parte del fabricante, pudiéndose alcanzar ésta con el uso tradicional de harina de konjac (SCF, 1997).

Los datos disponibles de toxicidad del glucomanano konjac incluyen información relativa a: 1) estudios de toxicidad oral aguda en ratones y ratas; 2) un estudio de sensibilización cutánea realizado en cobayas (Buehler test-maximization test); 3) un estudio nutricional subagudo (28 días) en ratas; 4) estudios nutricionales subcrónicos (90 días) en perros *beagle* y ratas, los últimos combinados con un estudio de toxicidad sobre la reproducción y relativos a aspectos concretos (por ejemplo, efectos sobre el intestino, la microflora del colon y la absorción de proteínas); 5) un estudio de 18 meses en ratas evaluando el envejecimiento celular; y 6) un estudio de embriotoxicidad en gatos domésticos. Los estudios de 90 días no mostraron efectos tóxicos importantes atribuibles al glucomanano. La disminución en el consumo de alimentos y la reducción del peso corporal, así como la hipertrofia del ciego/colon son efectos que se observan habitualmente en estudios nutricionales utilizando fibras dietéticas no absorbibles. El nivel sin efectos observables (NOEL), en el estudio de 90 días, fue de un 2,5 % de glucomanano de konjac en la dieta, lo que corresponde a 1,25 g/kg p.c./día (SCF, 1997).

Los ensayos sobre genotoxicidad en bacterias (test de Ames y ensayo de mutación de genes con *E. coli*) fueron negativos (SCF, 1997), así como el ensayo de linfoma en rata y el test de micronúcleos en médula ósea de ratón. Según la información disponible, los estudios realizados en humanos con harina konjac no muestran efectos tóxicos. Un número reducido de estudios en humanos indican que dosis únicas superiores a unos 5 g/persona/día producen diarrea, flatulencia y dolor abdominal ligero. Se ha señalado asimismo una disminución de la absorción de vitaminas liposolubles E y A, mientras que la absorción de vitaminas hidrosolubles B₁₂ y B₁, respectivamente, no resulta afectada o sólo ligeramente. Sin embargo, el glucomanano no parece influir en la absorción mineral.

En Australia se han notificado siete casos de obstrucción esofágica provocada por la ingestión de un único comprimido de glucomanano (500 mg) no hidratado que se comercializaba como complemento alimenticio. No se han señalado casos de obstrucción intestinal por el uso de konjac hidratado (SCF, 1997). El riesgo de obstrucción esofágica se debe a que el glucomanano absorbe mucha agua y rápidamente se hincha. Si ello ocurre en el esófago podría producir obstrucción. Este hecho no contradice la larga historia de uso de glucomanano en forma de tubérculo de *A. konjac*, que se remonta al año 900 en Japón. En este país se utiliza en forma de tubérculo triturado y de harina sin purificar como gelificante, permitiendo que absorba agua y se hinche antes de su ingestión. Mientras que en occidente, el glucomanano se usa como complemento alimenticio muy purificado, principalmente en forma de cápsulas, que se hincha tras la ingestión. Para prevenir la obstrucción, se recomienda la ingestión de glucomanano junto con 150 o 200 ml de agua, para fluidificar y facilitar su tránsito (Henry et al., 1986).

En la evaluación del glucomanano de konjac como aditivo alimentario, el Comité Científico sobre la Alimentación Humana concluye que los estudios de 90 días en ratas y perros *Beagle* no muestran efecto tóxico importante alguno, pudiéndose derivar un NOEL del 2,5 % de glucomanano en la dieta, que corresponde a 1,25 g/kg p.c./día (SCF, 1997). Dado que solo se han llevado a cabo estudios de mutación génica en bacterias con resultados negativos, hacen faltan estudios de toxicidad/carcinogenicidad a largo plazo para la correcta evaluación de seguridad. Además, dado que no se conoce suficientemente el grado en que el glucomanano es digerido en el intestino humano, no se puede establecer un valor de IDA.

Por otra parte, los datos experimentales disponibles, así como la experiencia en humanos no dan motivo de preocupación. El glucomanano de konjac como componente de la harina tiene una larga historia de consumo como alimento tradicional en países del lejano oriente. Aparte de la diarrea, el dolor abdominal y el efecto negativo sobre la absorción de vitaminas cuando se ingiere en dosis elevadas, no se han señalado efectos adversos en humanos. Por lo que el Comité Científico sobre la Alimentación Humana considera que el uso de glucomanano konjac como aditivo a una concentración del 1 % en los alimentos es aceptable siempre que la ingesta total procedente de todas las fuentes no supere los 3 g/día. Este valor máximo debe tenerse en cuenta al establecer las condiciones de uso. El Comité observa que la Directiva 95/2/EC (UE, 1995) incluye una nota a pie de página en relación a productos similares señalando que dicho producto no debe utilizarse en alimentos deshidratados destinados a ser rehidratados en el momento de la ingestión. El Comité considera que una observación similar es aplicable al glucomanano de konjac (SCF, 1997).

Resultados de ensayos en animales indican que el glucomanano de konjac no limita la absorción de minerales como el calcio, el hierro, el cobre o el cinc.

Posibles interacciones del glucomanano con medicamentos

Dado que se ha observado que el glucomanano disminuye la respuesta glucémica postprandial, el uso de complementos a base de glucomanano puede provocar hipoglicemia en pacientes que presentan diabetes y toman hipoglicemiantes.

Dado que el glucomanano puede adsorber principios activos medicamentosos, arrastrándolos hasta el colon y dificultando o impidiendo su absorción, se recomienda como medida de precaución que se advierta que, en caso de tratamiento farmacológico no deben simultanearse en una misma ingesta el fármaco y este complemento, salvo que haya una referencia explícita a que no hay interacción entre ambos.

10.5.5 Conclusión

Los principales efectos negativos alegados para el glucomanano son: a) influencia negativa sobre la bio-disponibilidad de las vitaminas E y A que debe confirmarse con estudios bien diseñados y con un tamaño de muestra adecuado; b) diarrea, flatulencia y dolor abdominal ligero a dosis superiores a 5 g/día; y c) posibilidad de obstrucción esofágica cuando se ingiere en forma de comprimidos de 500 mg.

El Comité Científico considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 4 g/día es aceptable desde el punto de vista su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Además, dado que la dosis que EFSA considera eficaz para mantener los niveles de colesterol para el glucomanano es de 4 g/día, se considera prudente que los complementos de fibra no aporten cantidades superiores a 4 g de glucomanano ya que dosis superiores no se ha visto que sean más eficaces.

Por todo ello, el Comité Científico aconseja que en los envases de complementos alimenticios a base de glucomanano de konjac figuren las siguientes advertencias:

- Para evitar la obstrucción gastrointestinal la ingestión de glucomanano debe realizarse junto con 150 o 200 ml de agua.

- No se debe ingerir el complemento de glucomanano justo antes de acostarse.
- Cuando se tome este tipo de preparados se deben evitar otros complementos alimenticios a base de fibra dietética.
- Dado que la fibra puede tener interacciones con algunos medicamentos alterando su eficacia, se recomienda consultar al médico en caso de consumirse de forma concomitante con medicamentos.
- Los pacientes con diabetes deben consultar con su médico antes de ingerir este complemento alimenticio.

Referencias

- Bélgica (1992). Arrete royal du 3 mars 1992 concernant la mise dans le commerce de nutriments et des denrées alimentaires auxquelles des nutriments ont été ajoutés (Mon. 15. IV.1992).
- BOE (2002). Real Decreto 142/2002, de 1 de febrero, por el que se aprueba la lista positiva de aditivos distintos de colorantes y edulcorantes para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización. BOE 44 de 20 de febrero de 2002, pp: 6.756-6.799.
- BOE (2009). Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios. BOE 244 de 9 de octubre de 2009, pp: 85.370-85.378.
- Dinamarca (2011). Lovtidende A. Bekendtgørelse om tilsætning af visse andre stoffer end vitaminer og mineraler til fodevarer. Udgivet den 13 august 2011, Nr 888, 12 august 2011.
- EFSA (2009). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to glucomannan and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 836, 1560) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/20061. *The EFSA Journal*, 7 (9), pp: 1.258.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to konjac mannan (glucomannan) and reduction of body weight (ID 854, 1556, 3725), reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 1559), maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 835, 3724), maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 3217), maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 3100, 3217), maintenance of normal bowel function (ID 834, 1557, 3901) and decreasing potentially pathogenic gastro-intestinal microorganisms (ID 1558) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/20061. *The EFSA Journal*, 8 (10), pp: 1.798.
- FCC (1996). Committee of Food Chemicals Codex, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy of Sciences. 4th edition. National Academy Press, Washington, D.C.
- González, A., Fernández, N., Sahagún, A.M., García, J.J, Díez, M.J., Calle, Á.P., Castro, L. y Sierra, M. (2004). Alimentos funcionales Glucomanano: propiedades y aplicaciones terapéuticas. *Nutrición Hospitalaria*, 19, pp: 45-50.
- Heath Canada (2012). Disponible en: <http://webprod.hc-sc.gc.ca/nhp/nd-bdpsn/ingredReq.do?id=1610&lang=eng> [acceso: 28-11-12].
- Henry, D.A., Mitchell, A.S. y Aylward, J. (1986). Glucomannan and risk of esophageal obstruction. *British Medical Journal*, 292, pp: 591-592.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiológico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 27-11-12].
- SCF (1997). Scientific Committee for foods. Reports of the Scientific Committee for foods Forty first series 41. Opinion on the safety in use of konjac gum a food additive (expressed on 13 December 1996). Disponible en: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_41.pdf [acceso: 27-11-12].
- UE (1995). Directiva 95/2/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de febrero de 1995, relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. DO L 61 de 18 de marzo de 1995, pp: 1-68.

10.6 Goma guar

10.6.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión de la goma guar en el Real Decreto 1487/2009 (BOE, 2009) a una dosis de 10 g/día con la advertencia de “no usar en alimentos deshidratados destinados a rehidratarse en el momento de la ingestión”. Dicha propuesta se basa en una evaluación favorable del uso como complemento alimenticio de dicha sustancia en Francia (AFSSA, 2008). Asimismo, existe una declaración de propiedades saludables autorizada para la goma guar derivada de una opinión positiva de EFSA en la que se establece que queda probado que la goma guar a una dosis de 10 g al día contribuye a mantener unos niveles normales de colesterol sanguíneo (EFSA, 2010).

10.6.2 Características y fuentes

La Directiva 2009/10/CE de la Comisión, de 13 de febrero de 2009, por la que se establecen criterios específicos de pureza de los aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes, define la goma guar como el endospermo triturado de semillas de cepas naturales de la planta guar *Cyamopsis tetragonolobus* (L.) Taub. (familia *Leguminosae*). Consiste esencialmente en un polisacárido hidrocolooidal de peso molecular alto, compuesto de unidades de galactopiranosas y anopiranosas combinadas con enlaces glucosídicos, que, desde el punto de vista químico, puede describirse como galactomanano. La goma puede estar parcialmente hidrolizada, por tratamiento térmico, ácido suave o tratamiento oxidante alcalino para ajustar la viscosidad (UE, 2009).

La planta guar es una leguminosa originaria de India, que se cultiva en las regiones intertropicales. Según ya se ha señalado el componente principal de la goma guar es una fracción polisacárido formada por polímeros de galactomananos (>92 % de la materia seca), incluye también una fracción proteica (5 %) (AFSSA, 2008).

Químicamente es un hidrocoloide de elevado peso molecular constituido por una cadena principal de unidades de β -D-manopiranosas con uniones (1 \rightarrow 4) con ramificaciones en la posición 6 a la que se unen unidades de α -D-galactosa (por ejemplo, 1 \rightarrow 6- unión α -D-galactopiranosas). Contiene entre 1,5 y 2 residuos de manosa por cada residuo de galactosa (EFSA, 2007). Se trata de una fibra soluble en agua, que no se digiere en el intestino humano.

La goma guar intacta o parcialmente hidrolizada no es un componente intrínseco de los alimentos, se utiliza como aditivo alimentario y también se ingiere en forma de complemento alimenticio.

En la Unión Europea el uso de la goma guar (E-412) como aditivo alimentario está autorizado por la Directiva 95/2/CE (UE, 1995). No tiene una IDA especificada, se puede utilizar *quantum satis* en todas las aplicaciones a alimentos. Habitualmente se usa como espesante, emulgente y estabilizante en una amplia gama de grupos de alimentos (EFSA, 2007).

Según la Unión Europea y la FAO/OMS/JECFA el contenido de galactomanano de la goma guar no debe ser inferior al 75 % y el peso molecular del producto grado alimentario estará comprendido entre 50.000 y 8.000.000 g/mol (JECFA, 1975) (UE, 2009).

Exposición

La goma guar se usa a distintas concentraciones como emulgente o estabilizante, ya sea sola o en combinación con otros espesantes o estabilizantes. Se suele utilizar en salsas, aderezos para ensaladas, fideos instantáneos, carnes procesadas, mejorantes panarios y bebidas.

Las propiedades espesantes, la cinética de hidratación y la sinergia con otros coloides son las propiedades clave subyacentes en la funcionalidad de la goma guar en los alimentos (Ellis et al., 2001). Las propiedades de la goma guar en disoluciones acuosas dependen del tamaño molecular. La despolimerización parcial por hidrólisis influye en sus propiedades espesantes y permite un mejor control de la viscosidad, características de flujo y propiedades de estabilización, sin afectar a la naturaleza química de la goma, lo que permite satisfacer las necesidades de la industria en una amplia gama de funcionalidades del producto (Ellis y Dawoud, 1991) (Blake et al., 1997) (Evans y Marrs, 1997) (Kök et al., 1999).

En lo que concierne al uso de la goma guar como complemento alimenticio o ingrediente de alimentos para usos especiales, el Panel NDA de EFSA ha evaluado las declaraciones de salud solicitadas para la goma guar intacta/nativa y también para la parcialmente hidrolizada (EFSA, 2010, 2011).

En el caso de la goma guar nativa (no hidrolizada) el Panel concluye que los datos presentados no permiten establecer una relación causa-efecto entre el consumo de goma guar y: 1) el mantenimiento a largo plazo de concentraciones normales de glucosa en sangre; 2) el aumento de la saciedad. Mientras sí se ha establecido una relación causa-efecto entre el consumo de goma guar y la disminución de la concentración de colesterol en sangre. Se podrá hacer la declaración en los alimentos que proporcionen como mínimo 10 g de goma guar al día en una o más raciones (EFSA, 2010).

En cuanto a la parcialmente hidrolizada, el Panel concluye que los datos presentados no permiten establecer una relación causa-efecto entre su consumo y: 1) la disminución de microorganismos patógenos gastrointestinales; 2) un efecto fisiológico beneficioso relacionado con cambios en la producción de ácidos grasos de cadena corta y/o el pH en el tracto gastrointestinal; 3) cambios en la función intestinal; y 4) disminución del malestar intestinal (EFSA, 2011).

Las estimaciones de exposición media a la goma guar parcialmente hidrolizada en Francia, Reino Unido y los Estados Unidos proporcionan valores de 3,45; 2,92 y 2,46 g/persona/día, respectivamente. El Panel AFC (*Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food*) de EFSA concluye que en el peor escenario posible, la exposición diaria media de un consumidor puede estimarse comprendida entre 41 y 57 mg/kg p.c./día (EFSA, 2007).

10.6.3 Nutrición y metabolismo

La goma guar es un polímero de origen vegetal que no digieren los enzimas del estómago ni los del intestino delgado; pero es metabolizado por la flora microbiana del colon. Su valor energético es bajo, inferior a 4 kcal/g (AFSSA, 2002).

El proceso de digestión en el tracto intestinal de la goma guar parcialmente hidrolizada es idéntico al de la goma guar intacta, en ambos casos el metabolismo se basa en la fermentación de manosa y de galactosa por la flora del colon (Nyman y Asp, 1982). La hidrólisis parcial inicial representa tan sólo una etapa de predigestión que también ocurre en la digestión de la goma guar en el organismo.

10.6.4 Seguridad

La seguridad de la goma guar como aditivo alimentario fue evaluada por vez primera por JECFA en 1969 y posteriormente por el Comité Científico sobre la Alimentación Humana en 1978 (JECFA, 1970, 1974, 1975) (SCF, 1978).

En los Estados Unidos la FDA califica a la goma guar como sustancia GRAS para numerosas aplicaciones en alimentos (CFR, 1974).

Se han realizado estudios toxicológicos con goma guar nativa y parcialmente hidrolizada.

Goma guar nativa (no hidrolizada)

Estudios en animales

Se ha publicado un estudio de carcinogenicidad (103 semanas) en ratas F344/N y ratones B6C3F1 a los que se administraron dietas con contenidos de 25 o 50 g de goma guar/kg, (lo que corresponde a alrededor de 1.250 o 2.500 mg/kg p.c./día en el caso de las ratas y a 3.600 y 7.200 mg/kg p.c./día en el de los ratones), comprobándose que no inducían cáncer (NTP, 1982a) (Melnick et al., 1983).

En otro estudio subcrónico se administraron dosis de hasta 100 g de goma guar/kg de dieta, y en un estudio de toxicidad en ratas en desarrollo hasta 150 g de goma guar/kg de dieta (Melnick et al., 1983) (Track et al., 1984). En dichos estudios el NOAEL corresponde a la dosis más alta ensayada.

Estudios en humanos

Un estudio clínico en humanos examinó los efectos de una dosis diaria de 30 g de goma de guar, durante 16 semanas, en pacientes diabéticos no insulino dependientes. En concordancia con informes previos no encontraron efectos adversos derivados del uso de goma guar. No se detectaron alteraciones de la función hematopoyética evaluada mediante recuentos sanguíneos completos, ni alteración de la función renal medida a través del nitrógeno ureico y de la creatinina séricos, ni hepatotoxicidad determinada mediante los niveles enzimáticos séricos ni tampoco desequilibrios electrolíticos. El estado nutricional evaluado mediante parámetros antropométricos, proteína y transferrina sérica y recuento de linfocitos no mostró cambios. El metabolismo de lípidos, vitaminas y minerales no se vio modificado. Se concluye que una ingesta diaria de al menos 30 g de goma guar durante 16 semanas no muestra toxicidad. Aunque los individuos del grupo expuesto a la goma guar mostraron como efectos secundarios malestar gastrointestinal, flatulencia y aumento de la frecuencia de las deposiciones, en la mayoría de los casos, los efectos desaparecieron al cabo de unos días (McIvor et al., 1985).

La goma guar no desencadena respuestas mutagénicas medibles en el ensayo *host mediated* que utiliza *Salmonella* (SRI, 1972) y no fue carcinogénico en ninguna especie ni sexo (NTP, 1982b).

Goma guar parcialmente hidrolizada

En Japón se utiliza desde 1987 como fibra dietética en distintos alimentos (Seon-Joo et al., 2008).

La FDA la considera sustancia GRAS desde 1995 (Angels, 1995). Al hidrolizar la goma guar se produce un simple acortamiento de la cadena de la manosa, y la relación estructural entre la cadena de manosa y el grupo galactosil lateral sigue siendo el mismo que en la goma guar intacta. No se dispone de pruebas de que cambios en la viscosidad vayan a tener influencia alguna en la seguridad de la moléculas de galactomanano hidrolizadas (Seon-Joo et al., 2008).

La toxicidad de la goma guar parcialmente hidrolizada se evaluó en ratas *Sprague-Dawley* machos y hembras, a dosis de 0, 0,5 y 2,5 g/kg p.c./día durante 28 días. La tolerancia fue buena y el consumo de alimentos y el peso corporal no se vieron afectados por el tratamiento. Los análisis de orina, hematoló-

gicos y bioquímicos no mostraron alteración alguna que pudiera atribuirse al tratamiento, tampoco se produjeron cambios en el estado general de las ratas ni muerte alguna (Takahashi et al., 1994a).

En un estudio subcrónico (13 semanas) realizado en ratas, no se observaron signos de toxicidad con aportes de hasta el 10 % goma guar parcialmente hidrolizada en la dieta (Takahashi et al., 1994b).

La mutagenicidad se estudió en un ensayo de mutación reversa microbiana con las cepas TA100 y TA98 de *Salmonella typhimurium*, en el que concentraciones de hasta 5 mg/placa no tuvieron efecto alguno en las tasas de mutación reversa.

La administración de dosis de 36 g de goma guar parcialmente hidrolizada/día, durante 4 semanas, a voluntarios humanos adultos, no provocó efectos secundarios (Takahashi et al., 1993), ni tampoco una ingesta diaria de 20-40 g de esta sustancia (Meier et al., 1993).

También se ha realizado un estudio de toxicidad (90 días) en ratas destetadas con dos tipos de goma guar despolimerizada por hidrólisis alcalina. Tras la adición a la dieta de diferentes concentraciones de estas gomas, (0, 20 o 50 g/kg alimento; correspondientes, respectivamente, a dosis de 0, 1.000 o 2.500 mg/kg p.c./día), el crecimiento, la ingesta dietética, los análisis bioquímicos, clínicos e histopatológicos de los animales expuestos indican la ausencia de efectos adversos atribuibles a las sustancias ensayadas (EFSA, 2007).

10.6.5 Conclusión

Se han notificado casos de alergia respiratoria en personas en contacto repetido por inhalación de polvo de goma guar; y se ha señalado que un consumo elevado del producto puede producir efectos secundarios gastrointestinales adversos (distensión abdominal, flatulencia, etc.), la tolerancia intestinal a la goma guar es buena a dosis inferiores a 40 g/día (AFSSA, 2002).

El Comité Científico considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 10 g/día de goma guar intacta o la goma guar parcialmente hidrolizada es aceptable desde el punto de vista su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Se aconseja que en el envase figuren las siguientes advertencias:

- Dado el aumento de volumen que se produce al hidratarse la goma guar, en la etiqueta debería incluirse la mención "No usar en alimentos que deben rehidratarse en el momento de la ingestión".
- Cuando se tome este tipo de preparados se deben evitar otros complementos alimenticios a base de fibra dietética.
- Se debe mencionar que no debe ingerirse conjuntamente con medicamentos y complementos de fibra, para evitar el riesgo de pérdida de absorción del principio activo farmacológico.

Referencias

AFSSA (2002). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation sur l'emploi, dans des denrées destinées à une alimentation particulière, de la gomme de guar (actuellement considérée comme additif technologique conformément à l'arrêté du 2 octobre 1997, en tant qu'additif au but nutritionnel. Afssa Saisine no 2002-SA-0069.

AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes

- et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Maisons-Alfort, le 8 septembre 2008. Disponible en: <http://www.anses.fr/Documents/NUT2007sa0231q.pdf> [acceso: 27-11-12].
- Angels, R.M. (1995). Letter from Food and Drug Administration, May 23.
- Blake, D.E., Hamblett, C.J., Frost, P.G., Judd, P.A. y Ellis, P.R. (1997). Wheat bread supplemented with depolymerised guar gum reduces the plasma cholesterol concentration in hypercholesterolemic human subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 65, pp: 107-113.
- BOE (2009). Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios. BOE 244 de 9 de octubre de 2009, pp: 85.370-85.378.
- CFR (1974). Guar gum, sec. 184.1339, in Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services (Chap. 1), 21 C.F.R., U.S. Government Printing Office, Washington, DC, pp: 525-526.
- EFSA (2007). European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to an application on the use of partially depolymerised guar gum as a food additive Question N° EFSA-Q-2006-122 doi:10.2903/j.efs.2007.514. *The EFSA Journal*, 514, pp: 1-17.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)- Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to guar gum and maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 794), increase in satiety (ID 795) and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 808) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 8, pp: 1.464.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)- Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to partially hydrolysed guar gum (PHGG) and decreasing potentially pathogenic gastro-intestinal microorganisms (ID 788), changes in short chain fatty acid (SCFA) production and/or pH in the gastro-intestinal tract (ID 787, 813), changes in bowel function (ID 813, 853, 1902, 1903, 1904, 2929, 2930, 2931), and reduction of gastro-intestinal discomfort (ID 813, 1902, 1903, 1904, 2929, 2930, 2931) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9, pp: 2.254.
- Ellis, P.R. y Dawoud, F.M. (1991). Blood glucose, plasma insulin and sensory responses to guarcontaining wheat breads: effects of molecular weight and particle size of guar gum. *British Journal of Nutrition*, 66, pp: 363-379.
- Ellis, P.R., Wang, Q., Raiment, P., Ren, Y. y Roos-Murphy, S.B. (2001). Guar Gum, agricultural and botanical aspects, physicochemical and nutritional properties, and its use in the development of functional foods. En libro: *Handbook of Dietary Fiber*. Marcel Dekker Inc. Ed. Chapter 32, pp: 613-657.
- Evans, M.T.A. y Marrs, W.M. (1997). Enhanced functionality for food hydrocolloids by molecular weight control: innovation and the regulatory maze. *The European Food and Drink Review*, Autumn, pp: 65-68.
- JECFA (1970). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Thirteenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_445.pdf [acceso: 27-11-12].
- JECFA (1974). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Seventeenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_539.pdf [acceso: 27-11-12].
- JECFA (1975). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. In Toxicological Evaluation of Certain Food Additives. 19th Report of the Joint FAO.WHO Expert Committee on Food Additives, World Health Organization (WHO), tech. Rep. Ser. 1975, No 576; FAO Nutrition Meetings report Series, 1975, No 55. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_576.pdf [acceso: 27-11-12].
- Kök, M.S., Hill, S.E. y Mitchell, J.R. (1999). Viscosity of galactomannans during high temperature processing: influence of degradation and solubilisation. *Food Hydrocolloids*, 13, pp: 535-542.
- Mclvor, M.E., Cummings, C.C. y Mendeloff, A.I. (1985). Long-term ingestion of guar gum is not toxic in patients with non insulin-dependent diabetes mellitus. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 41, pp: 891-894.
- Meier, R., Beglinger, C., Schneider, H., Rowedder, A. y Gyr, K. (1993). Effect of liquid diet with and without soluble fiber supplementation on intestinal transit and cholecystokinin release in volunteers. *Journal Parenteral Enteral Nutrition*, 17, pp: 231-235.

- Melnick, R.L., Huff, J., Haseman, J.K., Dieter, M.P. y Grieshaber, C.K. (1983). Chronic effects of agar, guar gum, gum arabic, locust bean gum or tara gum in F344 rats and B6C3F1 mice. *Food Chemical Toxicology*, 21, pp: 305-311.
- NTP (1982a). National Toxicological Program. Carcinogenesis bioassay of guar gum (CAS No. 9000-30-0) in F344 rats and B6C3F1 mice (Feed study). NIH Publ., Research Triangle Park, NC, USA, pp: 1-127.
- NTP (1982b). National Toxicological Program. Carcinogenesis bioassay of guar gum in F344/N rats and B6C3F1 mice (feeding study). NIH publication no 82-1785. US DHHS, Public Health Service, National Institute of Health, Washington DC. Disponible en: <http://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm?objectid=07064793-E27B-B251-ADAD2F49D634A0C3> [acceso: 27-11-12].
- Nyman, M. y Asp, N. (1982). Fermentation of dietary fibre components in the rat intestinal tract. *British Journal Nutrition*, 47, pp: 357-357.
- SCF (1978). Scientific Committee for Food. Report of the Scientific Committee for Food on Emulsifiers, Stabilizers, Thickeners and Gelling Agents—Opinion expressed on 30 November 1978-SCF 7th series. Disponible en: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_07.pdf [acceso: 27-11-12].
- Seon-Joo, Y., Djong-Chi, C. y Juneja, L.R. (2008). Safety and Application of Partially Hydrolyzed Guar Gum as Dietary Fiber. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 42, pp: 1-7.
- SRI (1972). Study of mutagenic effect of guar gum (FDA 71-16), in Report prepared under DHEW contract No. FDA 71-267, NTIS (National Technical Information Service), No. PB-221-815/4, Springfield, VA, 1972.
- Takahashi, H., Yang, S.I., Hayashi, C., Kim, M., Yamanaka, J. y Yamamoto, T. (1993). Effect of partially hydrolyzed guar gum on fecal output in human volunteers. *Nutrition Research*, 13, pp: 649-657.
- Takahashi, H., Yang, S.I., Fujiki, M., Kim, M., Yamamoto, T. y Greenberg, N.A. (1994a). Toxicity studies of partially hydrolyzed guar gum. *Journal of the American College of Toxicology*, 13, pp: 273-278.
- Takahashi, H., Yang, S.I., Kim, M. y Yamamoto, T. (1994b). Protein and energy utilization of growing rats fed on the diets containing intact or partially hydrolyzed guar gum. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 107A, pp: 255-260.
- Track, N.S., Cawkwell, M.E., Chin, B.E., Chu, S.S., Haberer, S.A. y Honey, C.R. (1984). Guar gum consumption in adolescent and adult rats: short- and long-term metabolic effects. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 63, pp: 1.113-1.121.
- UE (1995). Directiva 95/2/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de febrero de 1995, relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. DO L 61 de 18 de marzo de 1995, pp: 1-40.
- UE (2009). Directiva 2009/10/CE de la Comisión, de 13 de febrero de 2009, que modifica la Directiva 2008/84/CE, por la que se establecen criterios específicos de pureza de los aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. DO L 44 de 14 de febrero de 2009, pp: 62-78.

10.7 Inulina

10.7.1 Propuesta

La AESAN propone una cantidad máxima diaria de inulina o de la suma de inulina más fructooligosacáridos (FOS) de 9 g, con la advertencia de que “un consumo excesivo puede causar malestar intestinal”.

La propuesta ha sido consultada con la industria, que señaló que la composición y efectos de los fructooligosacáridos y de la inulina son similares y que, a menudo, se utilizan ambos en un mismo producto. Ello justifica la propuesta de una cantidad máxima diaria para la suma de fructooligosacáridos e inulina.

Existe una evaluación favorable de esta sustancia en Francia que indica que “un aporte diario de 8 g de la mezcla oligofruetosa enriquecida en inulina (4 g de oligofruetosa y 4 g de inulina) está exenta de riesgo” (AFSSA, 2006). En una evaluación posterior, AFSSA determinó como dosis segura 9 g/día con la advertencia de “la inulina puede presentar un riesgo para los sujetos alérgicos” (AFSSA, 2008).

La inulina figura en el informe de la Comisión Europea sobre sustancias presentes en complementos alimenticios en la Unión Europea (DG SANCO, 2008).

10.7.2 Características y fuentes

La inulina es un polímero lineal formado por unidades de fructosa unidas entre sí por un enlace β -(2-1) y que finaliza en una unidad de glucosa. Su estructura se puede representar con la fórmula GF_n, donde G es una unidad de glucosa, F es una unidad de fructosa y n el número de unidades de fructosa (n=10 a 60).

La inulina se encuentra presente en una amplia gama de vegetales, incluyendo raíces (achicoria), bulbos (cebolla, ajo), verduras (salsifí, puerros, alcachofas) y frutas (banana). Es una fibra alimentaria soluble (AFSSA, 2002). Con la alimentación se pueden llegar a ingerir varios gramos de inulina al día (Van Loo et al., 1995). Se estima que el consumo medio de fructanos (inulina y/o FOS) por habitante en Europa se encuentra entre los 3 y 11 g por día, y entre 1 y 4 g en Estados Unidos (Van Loo et al., 1995).

En Europa, la principal fuente industrial de inulina es la raíz de achicoria (*Cichorium intybus*), de la que se obtiene por extracción con agua caliente. La inulina de la raíz de achicoria tiene un grado de polimerización (DP)>10 (el DP se refiere al número de unidades de fructosa). En algunos casos la inulina contiene una fracción de azúcares libres (8-10 %). A partir de la inulina, por hidrólisis enzimática se obtiene oligofruetosa o fructooligosacáridos (FOS) con un DP<10 (n= 2 a 9).

La inulina se considera un ingrediente (no un aditivo) que se emplea en la formulación de diversos alimentos, especialmente productos de panadería y lácteos. Principalmente se adiciona al alimento como fibra dietética por sus propiedades prebióticas. Su incorporación supone aumentar el contenido de fibra sin aportar sabores desagradables ni modificar la viscosidad del producto, lo que permite la formulación de alimentos ricos en fibra con una apariencia y sabor similares a los convencionales. Para alcanzar un efecto prebiótico que favorezca el crecimiento de las bifidobacterias intestinales, las cantidades de inulina (sola o junto con FOS) adicionadas habitualmente a los alimentos son de 3-8 g por porción.

En ocasiones, la inulina se añade al alimento como sustituto de grasas. El potencial de sustitución de la grasa por la inulina fue descubierto y patentado por Beneo Orafiti® en 1992. La inulina se combina con agua para producir la misma textura y sensación en boca que la grasa. Esto es sólo posible en alimentos con contenidos elevados de agua como los productos lácteos. En general, 1 g de grasa se sustituye por 0,25 g de inulina. Por lo tanto, la sustitución de grasa puede dar lugar a concentraciones de inulina de

aproximadamente 2-6 g por porción (Coussement, 1999). El uso de inulina no es posible en alimentos ácidos con una vida útil larga, como refrescos o mermeladas de frutas, debido a que la inulina se hidrolizaría lentamente liberando fructosa (Coussement, 1999).

10.7.3 Nutrición y metabolismo

La inulina (al igual que los FOS) resiste la digestión enzimática en el tracto gastrointestinal superior hasta alcanzar prácticamente intacta el colon, donde es fermentada por la microbiota. La fermentación bacteriana de la inulina tiene lugar en la parte más distal del colon (a diferencia de los FOS que se metabolizan en la parte más proximal) produciendo gases, lactato y ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato, y butirato).

La tolerancia de la inulina es en general buena. Los efectos derivados de su metabolización colónica (flatulencia, incremento de la presión osmótica, distensión abdominal, diarrea, etc.) suelen afectar sólo a una pequeña fracción de la población más sensible. La mayoría de las personas pueden consumir hasta 20 g de inulina sin mostrar efectos secundarios notables, mientras que algunas personas experimentan malestar intestinal después de la ingestión de pequeñas cantidades de esta sustancia (Carabin y Flamm, 1999). Existe una amplia variabilidad interpersonal en las dosis a las que aparecen estos efectos y depende también del alimento en el que se encuentre incorporada la fibra.

Uno de los principales efectos de la inulina, y de los FOS, en el organismo es su actividad prebiótica, estimulando de forma selectiva el crecimiento y actividad de diferentes especies microbianas. Estudios *in vitro* han demostrado que la inulina es un excelente y selectivo medio de crecimiento y sustrato energético para las bifidobacterias. Igualmente, en estudios clínicos se ha confirmado que la inulina provoca un incremento significativo de las bifidobacterias respecto otras especies de la microbiota intestinal (Kleessen et al., 1997) (Kruse et al., 1999) (Tuohy et al., 2001). En general se considera que el consumo diario de entre 2,5 y 10 g al día de inulina y/u otro oligofruetosacárido pueden tener una actividad bifidogénica en adultos, pero existen notables diferencias interindividuales en la respuesta frente a la misma dosis, de forma que se pueden observar grandes diferencias en el incremento del número total de bifidobacterias.

Además de su efecto prebiótico, diversos estudios sugieren para la inulina otros posibles efectos nutricionales y fisiológicos (Koo and Rao, 1991) (Roland et al., 1994) (Delzene et al., 1995) (Gallaher et al., 1996) (Kleessen et al., 1997) (Taper et al., 1997) (Meyer, 1999) (Van den Heuvel et al., 1999) (Van Dokkum et al., 1999) (Causey, 2000) (Coussement y Frank, 2001) (Abrams et al., 2005) (Kelly, 2008).

En la actualidad hay un amplio consenso respecto al efecto positivo de la inulina y/o los FOS en la función bifidogénica y en el metabolismo de los lípidos en individuos hiperlipidémicos (Kelly, 2009). Respecto al papel de la inulina y/o FOS en la absorción del calcio, se han evidenciado diferencias dependiendo de las poblaciones estudiadas (Kelly, 2009). En 2006 AFSSA, en base a estudios en animales de experimentación y en humanos acepta, con algunas condiciones, la alegación de que "8 g/día de oligofruetosacárido enriquecida con inulina aumenta la absorción del calcio" (AFSSA, 2006). Las evidencias científicas del resto de funciones metabólicas atribuidas a la inulina no están aún del todo definidas o bien faltan estudios para poder establecer una clara relación dosis-efecto (Kelly, 2009).

En 2011, el Panel NDA de EFSA consideró que los fructanos (mezclas de inulina y oligofruetosacáridos de achicoria), no estaban lo suficientemente caracterizados en relación a las alegaciones propuestas

(EFSA, 2011). El Panel concluyó que en base a la información aportada no se podía establecer una relación de causa-efecto entre el consumo de fructanos tipo inulina y los efectos sobre la función intestinal, defensa frente a patógenos gastrointestinales, aumento de la absorción y retención del calcio, aumento de la densidad mineral ósea, mantenimiento de concentraciones normales de glucosa en sangre y saciedad.

10.7.4 Seguridad

La seguridad de la inulina para su uso como ingrediente ha sido evaluada por las autoridades sanitarias de diversos países, incluyendo países europeos y Estados Unidos. Como resultado, el empleo de la inulina como ingrediente se encuentra ampliamente aceptado sin ningún tipo de restricción en diversas formulaciones alimentarias (Pascal, 2008).

Aunque no se pueda considerar una prueba absoluta de seguridad, la larga historia de exposición a la inulina procedente de la dieta, incluso en cantidades considerables en el caso de algunas dietas concretas (hasta 20 g), sin que se hayan constatado efectos adversos avala su seguridad (Coussement, 1999).

La mayoría de los estudios de seguridad en modelos animales se han realizado con FOS pero, dadas las similitudes estructurales y en los efectos fisiológicos que ejercen, los resultados toxicológicos obtenidos para FOS se pueden extrapolar también a la inulina. Los estudios de toxicidad aguda, crónica, carcinogenicidad y genotoxicidad realizados en animales (Hussein et al., 1999) (Hughes y Rowland, 2001) (Coudray et al., 2003) (Roller et al., 2004) (Rehman et al., 2007) (Van Loo, 2007) (Pascal, 2008) (Tako et al., 2008) han demostrado que el consumo de la inulina y derivados (FOS), incluso administrados a dosis altas, no tiene consecuencias toxicológicas.

Todos los estudios clínicos realizados con inulina y/o oligofruktosa, tanto en sujetos normales como en pacientes (Roberfroid, 1993), proporcionan evidencias de su seguridad. Por ejemplo, la inulina se utiliza como procedimiento estándar para medir la tasa de filtración glomerular por inyección intravenosa desde 1931, sin que haya una historia registrada de efectos tóxicos (Price et al., 1978).

En el informe de AFSSA de 22 de diciembre de 2000 se especifica que puede haber una "posible aparición de trastornos intestinales en caso de un consumo superior a 20 g/día" y que "se han observado casos de sensibilización a polisacáridos con generación de anticuerpos antiglicídicos" y que, por lo tanto, "existe un posible riesgo de aparición de alergias a la inulina" (AFSSA, 2000). Se han descrito algunos casos de reacción a la inulina; uno de ellos fue el *shock* anafiláctico observado en una paciente alérgica a las alcachofas (Franck et al., 2005). Posiblemente una proteína unida a la inulina fue la responsable de las manifestaciones clínicas observadas. Otro caso, descrito por Gay-Crosier en el año 2000, se refiere a un hombre cuyos síntomas alérgicos aparecieron después del consumo de hojas de alcachofa y salsifí (Gay-Crosier et al., 2000).

En los Estados Unidos la inulina y los FOS se consideran sustancias GRAS desde 1992 (Kolbye et al., 1992).

10.7.5 Conclusión

Se han realizado diferentes evaluaciones de la toxicidad de la inulina en modelos animales, incluyendo toxicidad aguda, crónica y carcinogénesis, sin resultados que revelen un riesgo para la salud del consu-

midor. Los estudios clínicos que evalúan la seguridad de la inulina y/o la oligofructosa no han mostrado efectos tóxicos por el consumo de estos compuestos.

Aunque la tolerancia a la inulina es en general buena, se ha señalado que existe una amplia variabilidad interindividual en las dosis a las que aparecen efectos indeseables, tales como flatulencia, incremento de la presión osmótica, distensión abdominal, etc., derivados de su fermentación bacteriana en el colon. A la vista de estos efectos, AFSSA considera que se debe informar al consumidor de que una ingesta excesiva puede causar trastornos intestinales y desaconseja el uso de complementos alimenticios con un contenido elevado de inulina. No obstante, también indica que no hay elementos científicos para oponerse a un aporte suplementario de hasta 9 g al día de inulina (complementos alimentarios y alimentos enriquecidos), aun recordando que la inulina puede presentar un riesgo para sujetos alérgicos (AFSSA, 2000).

Por todo lo expuesto, el Comité Científico de la AESAN considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de una cantidad máxima diaria de inulina o de la suma de inulina más fructooligosacáridos (FOS) de 9 g, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Sin embargo, el Comité Científico de la AESAN aconseja que en los envases de complementos a base de Inulina figuren las siguientes advertencias:

- No deben ingerirse cantidades diarias superiores a 9 g de inulina/día, o de la suma de inulina y FOS, ya que un consumo excesivo puede causar malestar intestinal.
- Cuando se tome este tipo de complementos se deben evitar otros complementos alimenticios a base de fibra dietética.
- Dado que la fibra puede tener interacciones con algunos medicamentos alterando su eficacia, se recomienda consultar al médico en caso de consumirse de forma concomitante con medicamentos.

Referencias

- Abrams, S.A., Griffin, I.J., Hawthorne, K.M., Liang, L., Gunn, S.K., Darlington, G. y Ellis, K.J. (2005). A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82, pp: 471-476.
- AFSSA (2000). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Saisine 2000-SA-0134: Avis du 22 décembre 2000 relatif à l'évaluation de justifications des allégations concernant l'effet de l'inuline sur la flore intestinale humaine.
- AFSSA (2002). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Les fibres alimentaires: définitions, méthodes de dosage, allégations nutritionnelles. Rapport du comité d'experts spécialisé Nutrition humaine. Agence française de sécurité sanitaire des aliments (A.F.S.S.A.). Maisons-Alfort. FRA., pp: 1-62.
- AFSSA (2006). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Saisine n° 2005-SA-0438 de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des justificatifs concernant les allégations: «8g/ j d'oligofructose enrichi en inuline augmentent l'absorption de calcium» et «8g/ j d'oligofructose enrichi en inuline augmentent la densité en calcium de l'os». Maisons-Alfort, le 23 novembre 2006.
- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Saisine N° 2007-SA-0231 de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Maisons-Alfort, le 8 septembre 2008.

- Carabin, I.G. y Flamm, W.G. (1999). Evaluation of Safety of Inulin and Oligofructose as Dietary Fiber. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 30, pp: 268-282.
- Causey, J.L., Feirtag, J.M., Gallaher, D.D., Tunland, B.C. y Slavin, J.L. (2000) Effect of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. *Nutrition Review*, 20, pp: 191-201.
- Coudray, C., Demigne, C. y Rayssiguier, Y. (2003). Effects of dietary fibers on magnesium absorption in animals and humans. *Journal of Nutrition*, 133, pp: 1-4.
- Coussement, P.A.A. (1999). Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. *The Journal of Nutrition*, 129, pp: 1.412S-1.417S.
- Coussement, P. y Frank, A. (2001). Inulin and Oligofructose. En libro: Handbook of dietary. Fober- Ed. Sungsoo Cho, S. y Dreher, M.L. Marcel Dekker, Inc. NY.
- Delzenne, N., Aertssens, J., Verplaetse, N. y col. (1995). Effect of fermentable fructo-oligosaccharides on energy and nutrients absorption in the rat. *Life Science*, 57, pp: 1.579-1.587.
- DG SANCO (2008). Directorate Generale for Health and Consumers. Characteristics and perspectives of the market for food supplements containing substances other than vitamins and minerals. Commission staff working document. COM (2008)824 final. SEC (2008)2977.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to: a combination of millet seed extract, L-cystine and pantothenic acid (ID 1514), amino acids (ID 1711), carbohydrate and protein combination (ID 461), Ribes nigrum L. (ID 2191), Vitis vinifera L.(ID 2157), Grifola frondosa (ID 2556), juice concentrate from berries of Vaccinium macrocarpon Aiton and Vaccinium vitisidaea L. (ID 1125, 1288), blueberry juice drink and blueberry extracts (ID 1370, 2638), a combination of anthocyanins from bilberry and blackcurrant (ID 2796), inulin-type fructans (ID 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 804, 848, 849, 2922, 3092), green clay (ID 347, 1952), foods and beverages low in energy, energy free and energy reduced (ID 1146, 1147), and carbohydrate foods and beverages (ID 458, 459, 470, 471, 654, 1277, 1278, 1279) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9 (6), pp: 2.244.
- Franck, P., Moneret-Vautrin, D.A., Morisset, M., Kanny, G., Megret-Gabeaux, M.L. y Olivier, J.L. (2005). Anaphylactic reaction to inulin: first identification of specific IgEs to an inulin protein compound. *International Archives of Allergy and Immunology*, 136, pp: 155-158.
- Gallagher, D., Stallings, W., Blessing, L., Busta, F. y Brady, L. (1996). Probiotics, cecal microflora and aberrant crypts in the rat colon. *Journal of Nutrition*, 126, pp: 1.362-1.371.
- Gay-Crosier, F., Schreiber, G. y Hauser, C. (2000). Anaphylaxis from inulin in vegetables and processed food. *The New England Journal of Medicine*, 342, pp: 1372.
- Hughes, R. y Rowland, I.R. (2001). Stimulation of apoptosis by two prebiotic chicory fructans in the rat colon. *Carcinogenesis*, 22, pp: 43-47.
- Hussein, H.S., Flickinger, E.A. y Fahey, G.C.Jr. (1999). Petfood applications of inulin and oligofructose. *Journal of Nutrition*, 129, pp: 1.454S-1.456S.
- Kelly, G. (2008). Inulin-Type Prebiotics: A review (Part 1). *Alternative Medicine Review*, 13 (4), pp: 315-329.
- Kelly, G. (2009). Inulin-Type Prebiotics: A review (Part 2). *Alternative Medicine Review*, 14 (1), pp: 36-55.
- Kleessen, B., Sykura, B., Zunft, H.J. y Blaut, M. (1997). Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65, pp: 1.397-1.402.
- Kolbye, A.C., Blumenthal, H., Bowman, B., Byrne, J., Carr, C.J., Kirschman, J.C., Roberfroid, M.B. y Weinberger, M.A. (1992). Evaluation of the Food Safety Aspects of Inulin and Oligofructose-GRAS Determination. Orafit internal report. Orafit, Tienen, Belgium.
- Koo, M. y Rao, V. (1991). Long-term effect of bifidobacteria and Neosugar on precursor lesions of colonic cancer in cf1 mice. *Nutrition and Cancer*, 16, pp: 249-257.
- Kruse, H.P., Kleessen, B. y Blaut, M. (1999). Effects of inulin on faecal bifidobacteria in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 82, pp: 375-382.

- Meyer, P.D. (1999). A prebiotic ingredient with a heart. *Ingredients Health & Nutrition*, 2, pp: 26-27.
- Pascal, G. (2008). Prebiotics and Food Safety. En libro: *Handbook of probiotics*. Gibson G.R, Roberfroid, M. Ed. Taylor & Francis Group, LLC. Boca Raton. Florida.
- Price, M., Schwartz, R. y Hoyt, H. (1978). Evaluation and characteristics of currently available inulin. *Investigate Urology*, 16, pp: 13-14.
- Rehman, H., Rosenkranz, C., Bohm, J. y Zentek, J. (2007). Dietary inulin affects the morphology but not the sodium-dependent glucose and glutamine transport in the jejunum of broilers. *Poultry Science*, 86, pp: 118-122.
- Roberfroid, M. (1993). Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33, pp: 103-148.
- Roland, N., Nugon-Baudon, L., Flinois, J. y Beaune, P. (1994) Hepatic and intestinal cytochrome P-450, glutathione-S-transferase and UDP-glucuronosyl transferase are affected by six types of dietary fiber in rats inoculated with human whole fecal flora. *Journal of Nutrition*, 124, pp: 1.581-1.587.
- Roller, M., Rechkemmer, G. y Watzl, B. (2004). Prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* modulates intestinal immune functions in rats. *Journal of Nutrition*, 134, pp: 153-156.
- Tako, E., Glahn, R.P., Welch, R.M., Lei, X., Yasuda, K. y Miller, D.D. (2008). Dietary inulin affects the expression of intestinal enterocyte iron transporters, receptors and storage protein and alters the microbiota in the pig intestine. *British Journal of Nutrition*, 99, pp: 472-480.
- Taper, H.S., Delzenne, N. y Roberfroid, M. (1997). Growth inhibition of transplantable mouse tumors by non-digestible carbohydrates. *International Journal of Cardiology*, 71, pp: 1.109-1.112.
- Tuohy, K.M., Finlay, R.K., Wynne, A.G. y Gibson, G.R. (2001). A human volunteer study on the prebiotic effects of HP-inulin-faecal bacteria enumerated using fluorescent in situ hybridisation (FISH). *Anaerobe*, 7 (3) pp: 113-118.
- Van den Heuvel, E.G., Muys, T., van Dokkum, W. y Schaafsma, G. (1999). Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69, pp: 544-548.
- Van Dokkum, W., Wezendonk, B., Srikumar, T.S. y van den Heuvel, E.G. (1999). Effect of nondigestible oligosaccharides on large-bowel functions, blood lipid concentrations and glucose absorption in young healthy male subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53, pp: 1-7.
- Van Loo, J., Coussement, P., De Leenheer, L., Hoebregs, H. y Smits, G. (1995). On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, pp: 525-552.
- Van Loo, J. (2007). How chicory fructans contribute to zootechnical performance and well-being in livestock and companion animals. *Journal of Nutrition*, 137, pp: 2.594S-2.597S.

10.8 Pectinas

10.8.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto la inclusión de las pectinas en el Real Decreto 1487/2009 en una cantidad máxima diaria de 10 g.

Existen dos declaraciones de propiedades saludables autorizadas para las pectinas derivadas de dos opiniones positivas de EFSA en las que se establece que queda probado que las pectinas a una dosis de 6 g/día contribuyen a mantener unos niveles normales de colesterol sanguíneo y a dosis de 10 g/día contribuyen a reducir la subida de glucosa en sangre después de comer (EFSA, 2010).

10.8.2 Características y fuentes

Las sustancias pécticas incluyen un grupo amplio de polisacáridos vegetales complejos cuya estructura básica está formada por moléculas de ácido D-galacturónico unidas por enlaces glucosídicos α -D-(1,4), y en la cual algunos de los carboxilos pueden estar esterificados con metilos o en forma de sal. Esta cadena lineal está, generalmente, unida a polisacáridos neutros (arabinanos, arabinogalactanos y galactanos) unidos a regiones de ramnogalacturonanos que tienen un esqueleto de unidades de L-ramnosa unidas por enlaces α -(1,2) alternando con moléculas de ácido D-galacturónico unidas por enlaces α -D-(1,4). En las pectinas también pueden observarse otras estructuras como los xilogalacturonanos, ramnogalacturonanos II y apiogalacturonanos.

Las pectinas se encuentran en forma natural en los productos vegetales, ya que forman parte de la laminilla media de las paredes de las células vegetales. Algunas frutas como manzanas, grosellas, guayabas, membrillos, ciruelas, naranjas y otros cítricos son especialmente ricas en pectinas. También abundan en ciertas verduras y legumbres.

Las pectinas se utilizan también como ingredientes para enriquecer los alimentos con fibra vegetal, como substitutivo de grasas o azúcares en productos de bajo valor energético y como aditivos texturizantes para dar consistencia a ciertos alimentos formando geles y otras texturas. Algunos de estos aditivos son pectinas amidadas, en las que algunos de los grupos carboxilo de las pectinas nativas han sido amidados. Las pectinas dan lugar a geles termorreversibles en presencia de sacarosa a pH bajo (pectinas con un elevado grado de metilación, entre el 58 y el 77 % que se utilizan, por ejemplo, en la fabricación de confituras) o en presencia de iones calcio (pectinas de bajo grado de metilación ≤ 50 %, utilizadas en productos gelatinosos bajos en calorías, leches gelificadas, yogures, etc.). Por su óptima capacidad de gelificación, la pectina es uno de los principales responsables de la textura de los productos vegetales y de la viscosidad de sus zumos, y tiene un gran interés tecnológico en la industria alimentaria. Se usa como agente gelificante, espesante, emulgente y estabilizante, en la elaboración de mermeladas, jaleas y confituras, frutas en conserva, productos de panadería y pastelería, bebidas y otros alimentos, porque les confiere las características reológicas, y también la turbidez, deseadas por el fabricante y el consumidor. La lista de aditivos publicada en el anexo I de la Directiva del Consejo, de 29 de junio de 1978, relativa a la "aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre los agentes emulsionantes, estabilizantes, espesantes y gelificantes que pueden emplearse en los productos alimenticios" se designa las pectinas no amidadas bajo el código E-440a y las amidadas, generalmente de bajo índice metoxilo, con el número E-440b (UE, 1978).

Las pectinas se utilizan también en la industria farmacéutica. En España, por ejemplo, el Jarabe del Dr. Manceau a base de extracto fluido de manzanas, 10 g; extracto fluido de sen Palta, 8 g; extracto fluido de cilantro, 1 g; y jarabe simple c.s.p., 100 ml, utilizado para el estreñimiento. En Francia se ha comercializado un preparado a base de pectinas para el tratamiento del reflujo del recién nacido a dosis entre 360 y 600 mg/100 ml, habiéndose señalado de forma excepcional casos de litiasis renal u oclusión intestinal como efectos secundarios.

Las principales materias primas utilizadas para la producción de pectina son la pulpa de remolacha azucarera, la cáscara de cítricos y la pulpa de manzana. En muchas ocasiones se trata de subproductos de la industria azucarera o de zumos de frutas. A partir de estos materiales, la pectina se extrae básicamente mediante una hidrólisis ácida (pH 1,5 a 3,5) en caliente. Existen muchas otras posibles fuentes para la obtención de pectinas entre las que cabe destacar la uva, zanahoria, melocotón, legumbres, patata, cebolla, tabaco y residuos de jugos de frutas tropicales.

Recientemente EFSA se ha pronunciado respecto a las pectinas, indicando que existe suficiente evidencia científica de una relación causa-efecto entre el consumo de pectinas y: a) una reducción en la respuesta glicémica postprandial, b) el mantenimiento de unas concentraciones normales de colesterol en sangre (EFSA, 2010).

Para poder hacer estas declaraciones EFSA requiere que el alimento proporcione al menos 10 g de pectina (para reducir la respuesta glucémica) o 6 g de pectinas (para el mantenimiento del colesterol) por toma.

10.8.3 Nutrición y metabolismo

Se trata de un tipo de fibra soluble en agua, que es prácticamente degradada en su totalidad por la flora bacteriana colónica humana (fibra prebiótica). En su fermentación por la flora colónica se producen ácidos grasos volátiles de bajo peso molecular (acético, propiónico y butírico, mayoritariamente) que el colon puede utilizar como fuente energética. Las pectinas tienen una considerable capacidad de retención de agua, formando geles viscosos capaces de retrasar el vaciado gástrico, y de fijación de cationes bivalentes, ácidos biliares y otras sustancias orgánicas. Las pectinas no destacan por su capacidad de producir especial flatulencia en el hombre tras su consumo.

No se conoce estimación alguna del consumo habitual de pectina por la población. Sin embargo, para conseguir una ingesta diaria de 6 g de pectina (la dosis por toma considerada efectiva para reducir la glicemia postprandial por EFSA) se deberían ingerir 3 kg de naranjas o manzanas o bien 1,5 kg de albaricoque o calabaza enlatados en almíbar (Marlett, 1992). Por ello, es muy improbable alcanzar la dosis efectiva para reducir la glicemia postprandial o los niveles de colesterol a través de la alimentación habitual sin la toma de alimentos a los que se ha adicionado pectina como ingrediente o sin el consumo de complementos de pectinas.

La cantidad de pectina utilizada como aditivo varía en gran medida según el producto en que se utiliza. Así, por ejemplo, habitualmente se usa entre el 0,1 y 0,3 % en el caso de las bebidas a base de jugos de fruta, entre el 0,3 y el 1,2 % en el caso de mermeladas y confituras y entre el 1,5 y el 2,0 % en el caso de caramelos masticables. Por tanto, la cantidad de pectina que se incorpora como aditivo tampoco es suficiente para lograr los efectos beneficiosos, con un consumo razonable del alimento al que se ha añadido el aditivo.

10.8.4 Seguridad

Respecto a las IDAs de las pectinas, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios concluyó en 1973, tras analizar estudios de toxicidad a corto, medio y largo plazo, que no había necesidad de establecer un valor de IDA para los aditivos E-440a (JECFA, 1973). En el caso de las pectinas amidadas (E-440b), atendiendo a los ensayos complementarios toxicológicos a largo plazo, se fijó temporalmente en 1975 una IDA de 25 mg/kg p.c. (OMS, 1975) por su efecto trófico sobre el ciego. Para una persona de 60 kg este valor correspondería a una ingesta máxima de 1.500 mg de estas pectinas.

Desde 1978, las pectinas amidadas figuran en la lista GRAS de los Estados Unidos, lo que implica que no llevan asociadas límites máximos de uso. En la misma línea, en 1998, el Comité Científico sobre la Alimentación Humana ha establecido para la pectina (E-440a) y para la pectina amidada (E-440b) una IDA "no especificada" (UE, 1998). En consecuencia, las pectinas se pueden utilizar en condiciones *quantum satis* en la mayoría de los alimentos, excepto en aquellos específicamente restringidos en virtud de la Directiva 95/2/CE de 20 de febrero de 1995, sobre aditivos alimentarios distintos de colorantes y edulcorantes (UE, 1995).

En el año 2008, AFSSA emitió un dictamen relativo a la seguridad del uso de pectinas en la fabricación de complementos alimenticios tras evaluar estudios de toxicidad en animales y en humanos. Las conclusiones de este dictamen pueden resumirse en:

- Con las publicaciones disponibles hasta la actualidad no se puede justificar una suplementación en pectina para el ser humano sano que recibe una alimentación variada, equilibrada y con un aporte energético suficiente para cubrir las necesidades.
- El principal efecto negativo que podría comportar el consumo de pectinas procedería de la capacidad que tienen estas sustancias de quelar minerales disminuyendo su biodisponibilidad como se ha observado *in vivo* en modelos animales.

Debido a la escasez de estudios realizados en humanos sobre el impacto de la ingesta elevada de pectinas en la biodisponibilidad mineral, AFSSA consideró que los datos disponibles no eran suficientes para proponer una dosis que permitiera garantizar la seguridad de consumo de complementos alimenticios ricos en pectina (AFSSA, 2008). Dado el efecto negativo que eventualmente podría tener la ingesta elevada de pectinas sobre la biodisponibilidad de nutrientes y debido a que dicho informe de AFSSA era limitado en cuanto al número de estudios que incluía, se ha considerado necesario realizar una revisión a fondo de estudios tanto *in vitro* como sobre animales o en humanos en relación a la biodisponibilidad de minerales y micronutrientes.

En general, se ha observado que la adición de pectinas a la dieta no altera la absorción de la mayoría de minerales, excepto en el magnesio (Baig et al., 1983) (Van der Aar, 1983) (Ink, 1988) (Greger, 1999). Kim et al. en 1996 demostraron incluso que algunos tipos de pectina (por ejemplo, las de bajo peso molecular y elevado grado de esterificación) podían aumentar la absorción de hierro en modelos animales. Demigné et al. en 1989 demostraron un aumento del flujo de potasio, magnesio y calcio desde el ciego, en ratas que ingerían una dieta rica en pectina en comparación a aquellas no enriquecidas en dicho componente. En un estudio realizado en cerdos en crecimiento se observó un efecto no deseado de la pectina de manzana de bajo grado de metilación, a dosis de 2,5 %, sobre el balance de calcio, magnesio

y cinc (Bagheri y Gueguen, 1985). Esto no se observó para la pectina de manzana altamente metilada. Sin embargo, un estudio *in vitro* realizado con preparados para recién nacidos suplementados con pectinas de elevado grado de metilación (3 g de pectina/100 g de materia seca) demostró una disminución de solo el 10 % en la biodisponibilidad del calcio (Bosscher et al., 2003).

10.8.5 Conclusión

El principal efecto negativo alegado de las pectinas, influencia negativa sobre la biodisponibilidad mineral, no se ha confirmado de forma debida puesto que los resultados de ensayos *in vitro* y de estudios en animales y en humanos, proporcionan resultados contradictorios. Para evaluar si una ingesta elevada de pectinas tiene algún efecto significativo sobre la biodisponibilidad mineral se requieren estudios en humanos bien diseñados y con un tamaño de muestra adecuado.

El Comité Científico considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 10 g/día es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Dado que la dosis que EFSA considera eficaz para reducir la glicemia postprandial para la pectina es de 10 g por toma, se considera prudente que los complementos de fibra no aporten cantidades superiores a 10 g de pectina por toma ya que dosis superiores no se ha visto sean más eficaces en reducir la glicemia postprandial.

Asimismo aconseja que en el envase figuren las siguientes advertencias:

- Cuando se tome este tipo de preparados se deben evitar otros complementos alimenticios a base de fibra dietética.
- Dado que la fibra puede tener interacciones con algunos medicamentos alterando su eficacia, se recomienda consultar al médico en caso de consumirse de forma concomitante con medicamentos.

Referencias

- AFFSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Saisine N° 2007-SA-0231.
- Bagheri, S. y Guéguen, L. (1985). Effect of wheat bran and pectin on the absorption and retention of phosphorus, calcium, magnesium and zinc by the growing pig. *Reproduction Nutrition Development*, 25 (4A), pp: 705-716.
- Baig, M.M., Burgin, C.W. y Cerda, J.J. (1983) Effect of dietary pectin on iron absorption and turnover in the rat. *Journal of Nutrition*, 113, pp: 2385-2389.
- Bosscher, D., Van Caillie-Bertrand, M., Van Cauwenbergh, R. y Deelstra, H. (2003). Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. *Nutrition*, 19 (7-8), pp: 641-645.
- Demigné, C., Levrat, M.A. y Rémésy, C. (1989) Effects of feeding fermentable carbohydrates on the cecal concentrations of minerals and their fluxes between the cecum and blood plasma in the rat. *Journal of Nutrition*, 119, pp: 1625-1630.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to pectins and reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 786), maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 818) and increase in satiety leading to a reduction in energy intake (ID 4692) pursuant to Article

- 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006 *The EFSA Journal*, 8 (10), pp: 1747. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1747.htm> [acceso: 27-11-12].
- Greger, J.L. (1999). Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability. *Journal of Nutrition*, 129 (7), pp: 1.434S-1.435S.
- Ink, S.L. (1988). Fiber-mineral and fiber-vitamin interactions. En libro: *Nutrient Interactions*. Bodwell, C. E. & Erdman, J. W., Jr., eds, Marcel Dekker, New York, pp. 253-264.
- JECFA (1973). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Pectins and amidated pectins. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je17.htm> [acceso: 27-11-12].
- Kim, M., Atallah, M.T., Amarsiriwardena, C. y Barnes, R. (1996). Pectin with low molecular weight and high degree of esterification increases absorption of ⁵⁸Fe in growing rats. *Journal of Nutrition*, 126, pp: 1.883-1.890.
- Marlett, J.A. (1992). Content and composition of dietary fiber in 117 frequently consumed foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 92 (2), pp: 175-186.
- OMS (1975). Organización Mundial de la Salud. Pectin (amidated). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series No. 8. Nineteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v08je09.htm> [acceso: 27-11-12].
- UE (1978). Directiva del Consejo, de 29 de junio de 1978, que modifica por primera vez la Directiva 74/329/CEE relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre los agentes emulsionantes, estabilizantes, espesantes y gelificantes que pueden emplearse en los productos alimenticios. DO L 197 de 22 de julio de 1978, pp: 22-25.
- UE (1995). Directiva 2/95/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de febrero de 1995 relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. DO L 61 del 18 de marzo de 1995, pp: 1-40.
- UE (1998). Directiva 98/86/CE de la Comisión de 11 de noviembre de 1998 por la que se modifica la directiva 96/77/CE que establece los criterios específicos de pureza de los aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. DO L 334 de 9 de diciembre de 1998, pp: 1-63.
- Van der Aar, P., Fahey, G.C., Rick, S.C., Allen, S.E. y Berger, L.L. (1983). Effects of dietary fibers on mineral status in chicks. *Journal of Nutrition*, 113, pp: 653-661.

11. Otras sustancias

11.1 Colina (como colina, cloruro, citrato o bitartrato de colina)

11.1.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de colina de 1.500 mg, utilizando como fuentes tanto colina como las sales de cloruro, citrato o bitartrato de colina. Dicha propuesta se basa en la existencia de límites legales en Bélgica (75 mg/día como mínimo y 1.500 mg/día como máximo) (Bélgica, 2009).

El Reglamento (CE) N° 953/2009 (UE, 2009) incluye la colina, cloruro, citrato y bitartrato de colina entre las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. En concreto, pueden añadirse en los alimentos dietéticos destinados a una alimentación especial, incluidos los alimentos destinados a usos médicos especiales, con exclusión de los preparados para lactantes, los preparados de continuación, los alimentos elaborados a base de cereales y los alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad.

Por su parte, la Directiva 2006/141/CE (UE, 2006) relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y su transposición en España a través del Real Decreto 867/2008 (BOE, 2008) permite, al establecer la composición básica de los preparados para lactantes cuando se reconstituyen de acuerdo con las instrucciones del fabricante, la utilización de colina en una concentración mínima de 1,7 mg/100 kJ (7 mg/100 kcal) y máxima de 12 mg/100 kJ (50 mg/100 kcal). Esta autorización incluye tanto a colina como a cloruro, citrato y bitartrato de colina.

En Italia está autorizada en complementos alimenticios una cantidad máxima diaria de 1.000 mg de colina (Italia, 2012).

11.1.2 Características y fuentes

La colina, amina cuaternaria, es un nutriente esencial para la función normal de todas las células (Zeisel y Blusztajn, 1994). No existe duda de que las células requieren colina y mueren por apoptosis cuando se les priva de este nutriente.

La colina se encuentra en una amplia variedad de alimentos (Zeisel et al., 2003) de origen animal (hígado, huevos, carne de cerdo, de ternera, salmón, entre otros) y vegetal (coles de Bruselas, brócoli, coliflor, entre otros). Fuentes excelentes de colina en dieta incluyen hígado, huevos y germen de trigo donde se encuentra la colina en forma libre y esterificada (como fosfocolina, glicerofosfocolina, fosfatidilcolina y esfingomielina). La leche humana es rica en compuestos de colina.

El Departamento de Agricultura de Estados Unidos ha incluido en su base de datos el contenido de colina de los alimentos (USDA, 2012).

La colina es absorbida mediante transporte a través del intestino delgado. La fosfatidilcolina se absorbe en el intestino delgado. Los compuestos de colina solubles en agua se absorben vía circulación presistémica.

Otra fuente de colina, aparte de la dieta, es a partir de la biosíntesis de fosfatidilcolina, catalizada por la enzima fosfatidiletanolamina N-metiltransferasa (PEMT) (Zhu et al., 2004). Esta enzima usa la S-adenosilmetionina como un donador de metilo y forma una nueva mitad de colina (Blusztajn et al., 1985).

Estudios en modelos de animales demuestran que ratones alimentados con una dieta deficiente en colina desarrollan hígado graso, lesión hepática aguda con mortalidad; una dieta rica en colina puede

prevenir este efecto e incluso si se coge a tiempo revierte la lesión hepática (Walkey et al., 1998) (Waite et al., 2002). Ratonos con deficiencia de PEMT tienen contenidos hepáticos de colina más bajos a pesar de recibir suplementos de colina. Por ello, se admite que la producción de colina por PEMT es una fuente significativa de colina si se compara con la ingesta dietética.

En humanos, una dieta deficitaria en colina origina en la mayoría de varones adultos y mujeres postmenopáusicas signos de disfunción orgánica (principalmente lesión hepática y muscular) (Zeisel et al., 1991) (Da Costa et al., 2004). Únicamente el 44 % de las mujeres premenopáusicas desarrollan estos signos, ello parece ser debido a que los estrógenos inducen la expresión del gen PEMT, permitiendo una mayor producción de colina endógena en las mujeres premenopáusicas. La variabilidad interindividual significativa en los requerimientos dietéticos de colina puede explicarse por el polimorfismo genético. La colina es crítica durante el desarrollo fetal, pudiendo afectar a la estructura y a la función cerebral (Loy et al., 1991) (Albright et al., 1999) (Craciunescu et al., 2003).

11.1.3 Nutrición y metabolismo

La colina, o sus metabolitos, garantizan la integridad estructural y las funciones de las membranas celulares, son esenciales para el buen funcionamiento de la neurotransmisión colinérgica, de la función muscular y del transporte lipídico a partir del hígado, y son la principal fuente de grupos metilo en la dieta (uno de los metabolitos de la colina, la betaína, participa en la metilación de homocisteína para formar L-metionina. En la mayoría de los mamíferos, la ingestión prolongada (semanas a meses) de una dieta deficiente en colina (con adecuado o aunque limitado contenido en folato y L-metionina) origina trastornos hepáticos, renales y pancreáticos, alteraciones en la memoria y en el crecimiento (Zeisel y Blusztajn, 1994).

Se han publicado diversos trabajos de revisión sobre el metabolismo y funciones de la colina (Kuksis y Mookerjee, 1978) (Zeisel y Blusztajn, 1994).

Únicamente una pequeña fracción de la colina dietaria sufre acetilación, reacción catalizada por la colina acetiltransferasa, enzima que se encuentra mayormente en las terminaciones nerviosas colinérgicas, pero que también está presente en otros tejidos como la placenta. Es interesante que la placenta sea uno de los pocos tejidos que almacena grandes cantidades de colina como acetilcolina, seguramente para asegurar colina al feto (Leventer y Rowell, 1984).

La formación de betaína implica oxidación a betaína aldehído en la capa más interna de la membrana mitocondrial (Lin y Wu, 1986) y la oxidación de betaína aldehído forma betaína, ambos pasos catalizados por la enzima colina dehidrogenasa (CHDH). El hígado y el riñón son los principales lugares para la oxidación de la colina.

El mayor uso de colina es como precursor para la síntesis de fosfolípidos de membrana. Fosfatidilcolina es el fosfolípido predominante (>50 %) en la mayoría de las membranas en mamíferos. Los mecanismos que controlan la biosíntesis de fosfatidilcolina (Kent, 1990) ocurren en dos fases. En la primera, la colina es fosforilada y convertida en citidina difosfocolina, intermedio que en combinación con diacilglicerol forma fosfatidilcolina y citidina monofosfato. En la segunda fase, la fosfatidiletanolamina se metila de forma secuencial para formar fosfatidilcolina usando 5-adenosilmetionina como donador de metilo. Esta última fase es más activa en hígado, pero también se ha identificado en muchos otros tejidos incluyendo el cerebro y la glándula mamaria.

El metabolismo de la colina, folato y L-metionina están relacionados, interaccionan en el punto en el que la homocisteína se convierte a L-metionina. Por lo tanto, cualquier requerimiento para la colina en dieta debe de ser considerado en relación a estos otros nutrientes. La homocisteína puede ser metilada para formar L-metionina por dos fases paralelas; en la primera están involucradas la vitamina B₁₂ y el ácido fólico en una reacción catalizada por la L-metionina sintetasa. La deficiencia de estos nutrientes o polimorfismo en genes puede originar concentraciones plasmáticas elevadas de homocisteína. Niveles altos de homocisteína plasmática representan un factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares (Glueck et al., 1995) (McCully, 1996). La deficiencia en folato y colina da lugar a efectos sobre la apoptosis cerebral (Craciunescu et al., 2003, 2004).

La mujer durante el embarazo y lactación demanda mayor cantidad de colina; el transporte de colina al feto depleciona la colina plasmática (McMahon y Farrell, 1985). Por ello a pesar de que la capacidad para sintetizar colina esta aumentada, la demanda de este nutriente es tan alta que se origina una depleción de sus lugares de almacenamiento. En general, la mujer es menos susceptible a una deficiencia de colina dietaria y presenta adecuados almacenamientos de colina antes del embarazo. Sin embargo, presentan mayor riesgo por una deficiencia de colina durante el embarazo. Se admite una ingesta en dieta de colina de 300 mg/día a >500 mg/día para prevenir el riesgo de un defecto en el recién nacido (Shaw et al., 2004). La ingesta de colina dietaria durante el embarazo es importante por su influencia en el desarrollo del cerebro del feto y porque es importante mantener en el embarazo niveles plasmáticos normales de homocisteína. Altas concentraciones de homocisteína en la madre están asociadas con un incremento en la incidencia de defectos en el nacimiento (Hobbs et al., 2005) (Velzing-Aarts et al., 2005).

11.1.4 Seguridad

Una de las consecuencias funcionales de la deficiencia de colina en la dieta en humanos es el desarrollo de hígado graso (Zeisel et al., 1991) (Buchman et al., 1995) debido a una falta de fosfatidilcolina. También la deficiencia de colina en humanos está asociada con lesión hepática (aminotransferasas séricas elevadas). Además está reconocido que la deficiencia de colina en humanos también puede presentar lesión muscular (Da Costa et al., 2004).

En la literatura existen numerosos estudios en humanos que, aunque no van estrictamente dirigidos a evaluar la seguridad de la colina, si pueden servir como base para aceptar la seguridad de su uso. La mayoría de estos estudios están dirigidos a evaluar la eficacia de la colina en la viabilidad fetal y embriogénesis del cerebro, en los trastornos de la memoria, en la función colinérgica y neuronal en adultos, entre otros. Ninguno de estos estudios, con dosis que van desde 1 g/día durante 3 meses hasta 25 g/día durante 6 meses, han evidenciado efectos adversos atribuibles a la colina (Levy, 1982) (Little et al., 1985) (Spiers et al., 1996).

En 1998, el Servicio de Nutrición del Instituto de Medicina de Estados Unidos estableció una ingesta adecuada (AI) y UL para la colina (Tabla 4). El UL se derivó del LOAEL (hipotensión) en humanos.

Tabla 4. Valores de ingesta de referencia en dieta para la colina

Población	Edad	Ingesta Adecuada (AI)	Niveles Máximos Tolerables (UL)
Niños	1-3 años	200 mg/día	1.000 mg/día
	4-8 años	250 mg/día	1.000 mg/día
	9-13 años	375 mg/día	2.000 mg/día
Varones	14-18 años	550 mg/día	3.000 mg/día
	≥19 años	550 mg/día	3.500 mg/día
Mujeres	14-18 años	400 mg/día	3.000 mg/día
	≥19 años	425 mg/día	3.500 mg/día
Embarazadas	todas las edades	450 mg/día	UL aproximado edad
En lactación	todas las edades	550 mg/día	UL aproximado edad

Fuente: (IMNAS-USA, 1998).

11.1.5 Conclusión

No se han evidenciado efectos adversos en las diferentes evaluaciones realizadas ni en los diversos estudios clínicos realizados para valorar la eficacia de la colina en diferentes situaciones patológicas en humanos. Sin embargo, en 1998 el Instituto de Medicina de Estados Unidos estableció para adultos un UL para la colina de 3 a 3,5 g/día, derivado del nivel más bajo de efecto adverso observable (hipotensión).

Por tanto, el Comité Científico de la AESAN considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de una cantidad máxima diaria de colina de 1.500 mg es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso en los complementos alimenticios.

Referencias

- Albright, C.D., Tsai, A.Y., Friedrich, C.B., Mar, M.H. y Zeisel, S.H. (1999). Choline availability alters embryonic development of the hippocampus and septum in the rat. *Brain Research*, 113, pp: 13-20.
- Bélgica (2009). Arrêté Ministeriel du 19 Février 2009 relatif à la fabrication et au commerce de compléments alimentaires contenant d'autres substances que des nutriments et des plantes ou des préparations de plantes (Mon. 18.03.2009).
- Blusztajn, J.K., Zeisel, S.H. y Wurtman, R.J. (1985). Developmental changes in the activity of phosphatidylethanolamine N-methyltransferases in rat brain. *The Biochemical Journal*, 232, pp: 505-511.
- BOE (2008). Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnica sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación. ANEXO III: vitaminas, minerales, aminoácidos y otros compuestos. BOE 131 de 30 de mayo de 2008, pp: 25.121-25.137.
- Buchman, A., Dubin, M., Moukarzel, A., Jenden, D., Roch, M., Rice, K.M., Gornbein, J. y Ament, M.E. (1995). Choline deficiency: a cause of hepatic steatosis during parenteral nutrition that can be reversed with intravenous choline supplementation. *Hepatology*, 22, pp: 1.399-1.403.
- Craciunescu, C.N., Albright, C.D., Mar, M.H., Song, J. y Zeisel, S.H. (2003). Choline availability during embryonic development alters progenitor cell mitosis in developing mouse hippocampus. *Journal of Nutrition*, 133, pp: 3.614-3.618.
- Craciunescu, C.N., Brown, E.C., Mar, M.H., Albright, C.D., Nadeau, M.R. y Zeisel, S.H. (2004). Folic acid deficiency during late gestation decreases progenitor cell proliferation and increases apoptosis in fetal mouse brain. *Journal of Nutrition*, 134, pp: 162-166.
- Da Costa, K.A., Badea, M., Fischer, L.M. y Zeisel, S.H. (2004). Elevated serum creatine phosphokinase in choline deficient humans: mechanistic studies in C2C12 mouse myoblasts. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80, pp: 163-170.
- Glueck, C.J., Shaw, P., Lang, J.E., Tracy, T., Sieve-Smith, L. y Wang, Y. (1995). Evidence that homocysteine is an independent risk factor for atherosclerosis in hyperlipidemic patients. *American Journal of Cardiology*, 75, pp: 132-136.

- Hobbs, C.A., Cleves, M.A., Melnyk, S., Zhao, W. y James, S.J. (2005). Congenital heart defects and abnormal maternal biomarkers of methionine and homocysteine metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, pp: 147-153.
- IMNAS-USA, (1998). Institute of Medicine, National Academy of Sciences USA. Dietary Reference Intakes for Folate, Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B12, Panthothenic Acid, Biotin, and Choline. Vol. 1. Washington, DC: Natl. Acad. Press.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiológico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf[acceso: 27-11-12].
- Kent, C. (1990). Regulation of phosphatidylcholine biosynthesis. *Progress in Lipid Research*, 29, pp: 87-105.
- Kuksis, A. y Mookerjee, S. (1978). Choline. *Nutrition Reviews*, 36, pp: 201-207.
- Leventer, S.M. y Rowell, P.P. (1984). Investigation of the rate-limiting step in the synthesis of acetylcholine by the human placenta. *Placenta*, 5, pp: 261-270.
- Levy, R. (1982). Lecithin in Alzheimer's disease. *Lancet*, 2, pp: 671-672.
- Little, A., Levy, R., Chuaqui-Kidd, P. y Hand, D. (1985). A double-blind, placebo controlled trial of high-dose lecithin in Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 48, pp: 736-742.
- Lin, C.S. y Wu, R.D. (1986). Choline oxidation and choline dehydrogenase. *Journal of Protein Chemistry*, 5, pp: 193-200.
- Loy, R., Heyer, D., Williams, C.L. y Meck, W.H. (1991). Choline-induced spatial memory facilitation correlates with altered distribution and morphology of septal neurons. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 295, pp: 373-382.
- McCully, K. (1996). Homocysteine and vascular disease. *Nature Medicine*, 2, pp: 386-389.
- McMahon, K.E. y Farrell, P.M. (1985). Measurement of free choline concentrations in maternal and neonatal blood by micropyrolysis gas chromatography. *Clinica Chimica Acta*, 149, pp: 1-12.
- Shaw, G.M., Carmichael, S.L., Yang, W., Selvin, S. y Schaffer, D.M. (2004). Periconceptional dietary intake of choline and betaine and neural tube defects in offspring. *American Journal of Epidemiology*, 160, pp: 102-109.
- Spiers, P., Myers, D., Hochanadel, G., Lieberman, H. y Wurtman, R. (1996). Citicoline improves verbal memory in aging. *Archives of Neurology and Psychiatry*, 53, pp: 441-448.
- UE (2006). Directiva 2006/141/CE de la Comisión, de 22 de diciembre de 2006, relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y por la que se modifica la Directiva 1999/21/CE. DO L 401 de 30 de diciembre de 2006, pp: 1-33.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269 de 14 de octubre de 2009, pp: 9-19.
- USDA (2012). Department of Agriculture. Disponible en: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/Choline/Choline.html> [acceso: 11-12-12].
- Velzing-Aarts, F.V., Holm, P.I., Fokkema, M.R., van der Dijks, F.P., Ueland, P.M. y Muskiet, F.A. (2005). Plasma choline and betaine and their relation to plasma homocysteine in normal pregnancy. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, pp: 1.383-1.389.
- Waite, K.A., Cabilio, N.R. y Vance, D.E. (2002). *Choline deficiency-induced liver damage is reversible in Pemt mice*. *Journal of Nutrition*, 132, pp: 68-71.
- Walkey, C.J., Yu, L., Agellon, L.B. y Vance, D.E. (1998). Biochemical and evolutionary significance of phospholipid methylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 273, pp: 27.043-27.046.
- Zeisel, S.H., da Costa, K.-A., Franklin, P.D., Alexander, E.A., Lamont, J.T., Sheard, N.F. y Beiser, A. (1991). Choline, an essential nutrient for humans. *The FASEB Journal*, 5, pp: 2.093-2.098.
- Zeisel, S.H. y Blusztajn, J.K. (1994). Choline and human nutrition. *Annual Review of Nutrition*, 14, pp: 269-296.
- Zeisel, S.H., Mar, M.H., Howe, J.C. y Holden, J.M. (2003). Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. *Journal of Nutrition*, 133, pp: 1.302-1.307.
- Zhu, X., Mar, M.H., Song J. y Zeisel, S.H. (2004). Deletion of the Pemt gene increases progenitor cell mitosis, DNA and protein methylation and decreases calretinin expression in embryonic day 17 mouse hippocampus. *Developmental Brain Research*, 149, pp: 121-129.

11.2 Sulfato de condroitina

11.2.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de sulfato de condroitina de 500 mg. Dicha propuesta se basa en la existencia de una evaluación favorable de esta sustancia en Francia considerando 500 mg/día (AFSSA, 2008) y en la autorización en Italia en complementos alimenticios de 500 mg/día (Italia, 2012).

11.2.2 Características y fuentes

La condroitina es un polisacárido incluido en el grupo de los glicosaminoglicanos. Desde el punto de vista químico está formado por una cadena de disacáridos de N-acetilgalactosamina y ácido glucurónico alternados. Habitualmente se encuentra unido a proteínas constituyendo agregados de alto peso molecular llamados proteoglicanos. Es un constituyente natural de los cartílagos articulares, donde se presenta en forma de sulfato confiriéndoles sus propiedades mecánicas y elásticas (CGCOF, 2011).

El sulfato de condroitina se extrae principalmente de cartílago bovino, porcino o marino (tiburón), aunque recientemente también se han desarrollado métodos para su obtención a partir de fuentes vegetales (Hathcock y Shao, 2007). El sulfato de condroitina mejor conocido, en cuanto a su eficacia y seguridad, es el extraído de la tráquea bovina y es por tanto, el más utilizado en la mayoría de los estudios. Dependiendo del origen (terrestre o marino) presenta diferentes proporciones de sulfato en posición 4 o sulfato en posición 6, así como diferentes valores de peso molecular.

11.2.3 Nutrición y metabolismo

La condroitina no es un nutriente, ni siquiera un componente habitual de la dieta. Se comercializa y se usa como complemento alimenticio para mejorar la salud de las articulaciones, habiendo adquirido una gran popularidad entre la población general existiendo un gran número de preparados comerciales que no han sido suficientemente estudiados en cuanto a su efectividad y seguridad (Vista y Lau, 2011). Tanto la condroitina como el sulfato de condroitina han sido objeto de sendas solicitudes de declaración de propiedades saludables a EFSA (ID 1504, ID 1505) en relación a la mejora de la salud y movilidad de las articulaciones. Sin embargo, el Panel NDA de EFSA ha considerado que de acuerdo con los datos disponibles, no se puede establecer una relación causa-efecto entre el consumo de condroitina o sulfato de condroitina y el mantenimiento de las articulaciones normales (EFSA, 2009). En dicho informe se destaca que todos los estudios en humanos de los efectos de la condroitina y sulfato de condroitina sobre la salud de las articulaciones se han llevado a cabo en pacientes diagnosticados de artrosis que, en opinión de EFSA, no son representativos de la población general. Dos publicaciones recientes (Sawitzke et al., 2010) (Vista y Lau, 2011) han revisado la información existente sobre eficacia clínica y seguridad en el uso de glucosamina y sulfato de condroitina, así como el posible beneficio de su uso como complementos alimenticios. En la revisión de Sawitzke et al. (2010) ninguno de los tratamientos empleados, entre los que se incluía el sulfato de condroitina, consigue diferencias clínicas importantes respecto al placebo y tampoco se observan diferencias en cuanto a los efectos adversos detectados en todos los tratamientos. Vista y Lau (2011) estudian, de forma más específica, el posible efecto de los complementos alimenticios sobre la osteoartritis y entre sus conclusiones indican que, aunque varios complementos para la artrosis

en ciertas combinaciones y dosis podrían jugar cierto papel en algunos pacientes en la reducción del dolor moderado o severo, el uso rutinario de complementos alimenticios no se recomienda para el tratamiento de la artrosis. Igualmente concluyen que, a largo plazo, el uso de los complementos para la osteoartritis es en general seguro. Wandel et al. (2010) en un metaanálisis en el que incluyen 3.803 pacientes no encuentran diferencia entre el placebo y la administración de condroitina y glucosamina, solas o en combinación.

La condroitina se absorbe por vía oral, su biodisponibilidad es de 15-24 % y la concentración máxima se alcanza a las 4 horas. Al menos el 90 % de la dosis se metaboliza primeramente por sulfatasas lisosomales, para luego ser despolimerizado por hialuronidasas, beta-glucuronidasas y beta-N-acetilhexosaminidasas. El hígado, los riñones y otros órganos participan en la biotransformación. No se han descrito interacciones con otros medicamentos (Bioibérica, 2003) (CGCOF, 2011).

11.2.4 Seguridad

En el catálogo de especialidades farmacéuticas del Consejo General de Colegios Farmacéuticos (CGCOF, 2011) se recogen precauciones en el uso de medicamentos conteniendo condroitina en pacientes con insuficiencia cardíaca o renal ya que, en muy raras ocasiones, pueden aparecer casos de edema y/o retención de agua. Este efecto podría ser atribuido al efecto osmótico del sulfato de condroitina.

En animales de experimentación se ha descrito una posible interacción con antiagregantes plaquetarios, sin embargo, en la investigación clínica y en la farmacovigilancia realizada a las dosis recomendadas no se ha detectado ningún efecto a ese nivel.

No se han realizado ensayos clínicos adecuados ni controlados en embarazadas y se desconoce si esta sustancia se excreta en la leche materna y sus efectos en el recién nacido. Se recomienda no ingerirlo durante la lactancia y tampoco se recomienda su uso en niños al no disponer de suficiente experiencia clínica. Como reacciones adversas se señalan náuseas y/o alteraciones gastrointestinales (con una frecuencia de 1/10.000 a 1/1.000) que generalmente no requieren la suspensión del tratamiento.

De cualquier forma, varios países europeos han utilizado, a lo largo de 20 años, el sulfato de condroitina para el tratamiento sintomático de la artrosis y los estudios de farmacovigilancia no han detectado ningún efecto tóxico importante durante ese periodo. La Liga Europea Reumatológica (EULAR) recomienda este fármaco para el tratamiento de la artrosis de rodilla debido a su alto perfil de seguridad. En una escala de 0-100, le atribuyen una toxicidad de 6, siendo uno de los productos más seguros para el tratamiento de la artrosis junto al sulfato de glucosamina (Jordan y Arden, 2003).

Se ha demostrado la total ausencia de toxicidad del sulfato de condroitina en los estudios clínicos publicados (Monfort et al., 2008). Estudios con una duración de 6 a 40 meses en los que se administraron dosis de 1-2 g/día demostraron una total ausencia de toxicidad. Igualmente, las últimas revisiones publicadas (Sawitzke et al., 2010) (Vista y Lau, 2011) también confirman la ausencia de efectos adversos en el uso prolongado de estos medicamentos.

El sulfato de condroitina no posee toxicidad en sí mismo. No se cree que la administración exógena de sulfato de condroitina de origen natural produzca toxicidad sistémica o genética, dado que forma parte de los componentes fisiológicos de los tejidos conectivos, siendo su estructura idéntica a la del sulfato de condroitina endógeno, componente natural del tejido conectivo humano.

En su informe AFSSA (2008) reconoce también la falta de toxicidad de esta sustancia, indicando una DL_{50} por vía oral en rata y ratón >10 g/kg.

Los estudios de toxicidad aguda, subaguda y crónica así como de mutagenicidad, genotoxicidad, carcinogénesis y toxicidad sobre la reproducción con sulfato de condroitina han sido en todos los casos negativos (Bioibérica, 2003). El trabajo más reciente sobre la evaluación de riesgo del sulfato de condroitina (Hatchcock y Shao, 2007) señala que la dosis más alta de sulfato de condroitina utilizado en los ensayos clínicos es de 1.200 mg/día. A estas dosis se presentó un solo caso de efectos adversos (gastritis) en un estudio realizado con 165 pacientes que recibieron tratamiento durante 3 años (Verbruggen et al., 2002).

La ausencia de efectos adversos en los diferentes ensayos realizados no ha permitido establecer un valor de NOAEL/LOAEL para el sulfato de condroitina. La evidencia indica que una dosis de 1.200 mg/día no produce efectos adversos, pero no permite conocer a qué dosis pueden aparecer efectos adversos. Por ello, estos autores (Hatchcock y Shao, 2007) identifican la dosis de 1.200 mg/día como el OSL para el consumo oral de sulfato de condroitina. Teniendo en cuenta el consumo relativamente bajo de sulfato de condroitina en la dieta esta evaluación de riesgo representa una buena aproximación para establecer el ULS en 1.200 mg/día, que representaría la dosis máxima de aporte en el marco de una suplementación alimentaria.

11.2.5 Conclusión

Al existir un medicamento autorizado con una posología de 800 a 1.200 mg/día y con objeto de no interferir en el ámbito del uso terapéutico de esta sustancia, la cantidad máxima diaria de condroitina en complementos alimenticios se debe establecer en un nivel inferior al terapéutico, tal como se sugiere en la propuesta.

El Comité Científico considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 500 mg de sulfato de condroitina es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

La utilización de sulfato de condroitina como complemento alimenticio no estaría recomendada en niños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia debido a la falta de información específica para esos grupos de población.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un Project d'arrêté relatif a l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et des plantes et preparations de plantes dans la fabrication de complements alimentaires. Afssa. Saisine N° 2007-SA-0231.
- Bioibérica (2003). Condrosan. Monografía del producto. Bioibérica S.A. Barcelona.
- CGCOF (2011). Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Catálogo de medicamentos 2011. Colección Consejo.
- EFSA (2009). European Food Safety Authority. Scientific opinion on the substantiation of health claims related to chondroitin and chondroitin sulphate and maintenance of joints (ID 1504, ID 1505) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 7 (9):1.262, pp: 14.

- Hathcock, J.N. y Shao, A. (2007). Risk assessment for glucosamine and chondroitin sulfate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 47, pp: 78-83.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiológico impiegabili negli integratori alimentari. Disponibile en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [accesso: 27-11-12].
- Jordan, K.M., y Arden, N.K. (2003). EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of the knee osteoarthritis. Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Annals of the Rheumatic Diseases*, 62, pp: 1.145-1.155.
- Monfort, J., Martel-Pelletier, J. y Pelletier, J.P. (2008). Chondroitin sulphate for symptomatic osteoarthritis. Critical appraisal of metaanalyses. *Current Medical Research and Opinion*, 24 (5), pp: 1.303-1.308.
- Sawitzke, A.D., Shi, H., Finco, M.F., Dunlop, D.D., Harris, C.L., Singer, N.G., Bradley, J.D., Silver, D., Jackson, C.G., Lane, N.E., Oddis, C.V., Wolfe, F., Lisse, J., Furst, D.E., Bingham, C.O., Reda, D.J., Moskowitz, R.W., Williams, H.J. y Clegg, D.O. (2010). Clinical efficacy and safety over two years use of glucosamine, chondroitin sulphate, their combination, celecoxib or placebo taken to treat osteoarthritis of the knee: a GAIT report. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69 (8), pp: 1.459-1.464.
- Vista, E.S. y Lau, C.S. (2011). What about supplements for osteoarthritis? A critical and evidenced-based review. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 14, pp: 152-158.
- Verbruggen, G., Goemaere, S. y Veys, E.M. (2002). Systems to assess the progression of finger joint osteoarthritis and the effects of disease modifying osteoarthritis drugs. *Clinical Rheumatology*, 21, pp: 231-243.
- Wandel, S., Juni, P., Tendal, B., Nüesch, E., Villiger, P.M., Welton, N.J., Reichenbach, S. y Trelle, S. (2010). Effects of glucosamine, chondroitin or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: network meta-analysis. *British Medical Journal*, 341, pp: c4675.

11.3 Monohidrato de creatina

11.3.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de monohidrato de creatina de 3.000 mg. Dicha propuesta se basa en la existencia de una evaluación favorable en Francia considerando 3.000 mg/día (AFSSA, 2008) y en la autorización existente en Italia (propuesta legislativa) de 3.000 mg/día. En Italia se especifica una cantidad de 6.000 mg/día para deportistas durante un periodo máximo de 1 mes y la advertencia de que está "contraindicada en mujeres embarazadas y en niños" (Italia, 2012).

EFSA ha opinado que no existe riesgo con el suplemento dietético monohidrato de creatina hasta dosis de 3.000 mg/día, dosis similar a la renovación diaria endógena de creatina (EFSA, 2004).

11.3.2 Características y Fuentes

Creatina (N-(aminoiminometil)-N-metil glicina) de fórmula empírica $C_4H_9N_3O_2 \cdot H_2O$ y peso molecular 149,1 daltons es una sustancia endógena que se sintetiza en el hígado, riñones y páncreas a partir de los aminoácidos esenciales L-arginina, glicina y L-metionina (Balsom et al., 1994). En mamíferos se acepta que la principal formación de guanidinoacetato se lleva a cabo en los riñones, se transporta a través de la sangre y sufre metilación a creatina en el hígado. En el hombre se encuentra a elevadas concentraciones en músculo esquelético (aproximadamente el 95 % de la creatina total). Un sujeto de 70 kg p.c. presenta aproximadamente 120 g de creatina total con una renovación de 2 g/día. Parte de esta renovación se puede remplazar con fuentes exógenas de creatina en los alimentos, principalmente carne, pescado y aves. Una dieta normal proporciona 1-2 g de creatina al día (SCF, 2000).

11.3.3 Nutrición y Metabolismo

La transferencia del grupo amidino de la L-arginina a la glicina para dar L-ornitina y ácido guanidino acético representa el primero de los dos pasos en la biosíntesis de creatina, catalizado por las enzimas AGAT (L-arginina:glicina amidinotransferasa) y GAMT (S-adenosil-L-metionina:N-guanidinoacetato metiltransferasa); la formación de guanidinoacetato es el paso limitante en la biosíntesis de creatina (Walker, 1979). En el páncreas tiene altos niveles de las enzimas AGAT y GAMT y el hígado de únicamente GAMT. La principal vía de biosíntesis de creatina en mamíferos implica la formación de guanidino acetato en el riñón, su transporte a sangre y su metilación para formar creatina en el hígado. La creatina es exportada desde el hígado y transportada a través de la sangre hasta los tejidos que requieren creatina. Los contenidos más altos de creatina se encuentran en músculo esquelético, corazón, espermatozoos, y células fotorreceptoras de la retina. Niveles medios se encuentran en cerebro, tejido adiposo, intestino, vesículas seminales, células endoteliales y macrófagos, y solo niveles bajos se encuentran en pulmón, bazo, riñón e hígado. Parece existir una buena correlación entre el nivel del ARNm transportador y la actividad total de la creatina quinasa, que a su vez también se correlaciona con la concentración total de creatina. Así, un incremento en la concentración de creatina en suero, bien por una fuente endógena o por una fuente exógena (suplementación en dieta), origina un descenso concomitante en el contenido de ARNm y en la actividad de la enzima AGAT, sugiriendo una regulación de la expresión de AGAT a nivel pretranslacional (Wyss y Kaddurah-Daouk, 2000).

En el hombre, la creatina tiene importantes implicaciones en distintas condiciones patológicas. Se asume que el sistema creatina quinasa/fosforilcreatina/creatina juega un papel importante en el metabo-

lismo energético del músculo esquelético. Existe evidencia científica que sugiere una estrecha correlación entre alteraciones en el metabolismo de creatina y diversas enfermedades neuromusculares (tales como distintas distrofias musculares, atrofia muscular espinal, esclerosis lateral amiotrófica), en enfermedades cardíacas, isquemia cardíaca, en enfermedades neurodegenerativas asociadas con estrés oxidativo (enfermedad de Parkinson, Alzheimer). La creatina y análogos emergen como una nueva clase de agentes neuroprotectores (Wyss y Kaddurah-Daouk, 2000).

El riñón juega un papel crucial en el metabolismo de creatina, es el principal órgano que contribuye a la síntesis de guanidinoacetato. En casos de fallo renal crónico, la actividad de AGAT renal y la excreción urinaria de guanidinoacetato esta disminuida (Takano et al., 1989) (Marescau et al., 1997).

En general, el nivel de creatinina en orina se utiliza como un marcador de la función renal, sin embargo aquellos sujetos, como muchos atletas, que toman creatina frecuentemente como complemento alimenticio tienen contenidos elevados de creatinina en orina, que representa un mayor índice de conversión muscular de creatina en creatinina, más que un fallo renal. En sujetos sanos que toman creatina, tras su almacenamiento muscular, la creatina adicional se convierte en creatinina y se excreta en orina (Pline y Smith, 2005).

11.3.4 Seguridad

Existe información toxicológica de creatina en animales. EFSA (2004) indica una DL_{50} en ratas mayor de 2 g creatina/kg p.c. y ausencia de efectos mutagénicos. También describe ausencia de efectos adversos en un estudio de toxicidad 28 días en ratas tratadas a dosis de 2 g creatina/kg p.c./día. Diversos investigadores (Ipsiroglu et al., 2001) (Taes et al., 2003) (Tarnopolsky et al., 2003) (Ju et al., 2005) a dosis en un intervalo de 0,05 a 2 g creatina/kg p.c. durante 2 y 8 semanas no observaron ningún efecto adverso ni alteraciones que comprometieran a la función renal.

Por el amplio uso de creatina como ingrediente en complementos dietéticos surge la necesidad de evaluar la seguridad de uso de creatina a través de un análisis cuantitativo del riesgo. Para el monohidrato de creatina, el análisis del riesgo se deriva de los datos de ensayos clínicos realizados en humanos descritos en la literatura científica. Estos datos no demuestran ningún efecto adverso observado, por ello se identifica el nivel más alto de ingesta con suficiente margen de confianza denominado OSL (Hathcock, 2004) o HOI (OMS, 2006). El OSL identificado a partir de ensayos clínicos en el hombre no requiere corrección para ingestas dietéticas o sustancias de síntesis endógena, así el OSL para el monohidrato de creatina es identificado como un seguro ULS.

A continuación se describen los datos científicos publicados en humanos relativos a la seguridad.

Existen más de 70 trabajos publicados de ensayos clínicos en el hombre que implican creatina, la mayoría en adultos sanos, aleatorios, controlados y dirigidos a evaluar la seguridad. El tamaño de la muestra, dosis y duración, control de la dieta, ejercicio físico, y medidas clínicas son muy variables entre los distintos ensayos. Las investigaciones sobre seguridad y toxicidad de creatina se centran, principalmente, en su efecto sobre la función renal, a partir del hecho de que el exceso de creatina se elimina vía filtración glomerular renal bien como creatina o como su metabolito creatinina (Ropero-Miller et al., 2000). En la práctica clínica se usan diversos marcadores para evaluar la función renal, niveles de creatinina y de urea sérica, y niveles de albúmina o inulina urinaria (Farquhar y Zambraski, 2002). Niveles elevados de creati-

nina sérica (el valor normal es 50-115 $\mu\text{mol/l}$) pueden indicar una función renal comprometida. En estos ensayos clínicos, la forma estudiada de creatina corresponde con el "monohidrato de creatina", cada gramo corresponde con 0,879 g de creatina. Por lo tanto siempre que se nombre creatina en estos ensayos clínicos se refiere a "monohidrato de creatina". En general, la población puede consumir aproximadamente 1 g creatina/día a partir de la dieta, que equivale a la cantidad que se produce endógenamente (Balsom et al., 1994), los ensayos clínicos publicados presentan ingestas de 3 a 12 veces superiores por lo que son adecuados para evaluar la seguridad de creatina suministrada por vía oral.

Se han descrito diversos ensayos clínicos (estudios a doble ciego, aleatorios y controlados) con dosis de hasta 26 g creatina/día (dosis de carga) seguido de hasta 6 g creatina/día (dosis de mantenimiento) (Chrusch et al., 2001); otros ensayos implican dosis de 30 g creatina/día hasta 5 años (Kreider et al., 1998) (Poortmans y Francaux, 1999) (Robinson et al., 2000) (Schilling et al., 2001) (Mayhew et al., 2002) (Potteiger et al., 2002) (Greenwood et al., 2003a) (Greenwood et al., 2003b) (Kreider et al., 2003) (Rose-ne et al., 2004) (Groeneveld et al., 2005). De todos estos ensayos solo dos estudios describieron efectos gastrointestinales (Chrusch et al., 2001) (Groeneveld et al., 2005) y otros dos estudios observaron un incremento de creatinina sérica (un 33 % con niveles de 90 $\mu\text{mol/l}$) en sujetos que habían recibido 20 g creatina/día (5 días) seguido de 3 g creatina/día (8 semanas) (Robinson et al., 2000) y un incremento de creatinina sérica (un 22,5 % con niveles de 125 $\mu\text{mol/l}$) en sujetos que recibían 15,75 g creatina/día durante 8 días (Kreider et al., 1998), pero ambos valores caen dentro del rango normal. Sin embargo, estos estudios clínicos no permiten identificar un OSL por haber sido realizados en un tamaño de muestra relativamente pequeño ($n=14$).

Se han descrito dos ensayos clínicos en adultos sanos a dosis de 20 g creatina/día (durante 5 y 7 días) seguido de una dosis de 10 g creatina/día (28 días) (Arciero et al., 2001) (Watsford et al., 2003) y un ensayo en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica (ELA) con dosis de 10 g creatina/día (310 días) (Groeneveld et al., 2005). En estos ensayos no se observaron efectos adversos ni alteraciones en los niveles de urea sérica ni de albúmina urinaria. Tampoco estos ensayos pueden utilizarse para identificar un OSL pues, aunque el tamaño de la muestra fue mayor ($n=88$), implicaba a pacientes que sufren de esclerosis lateral amiotrófica.

Se han descrito cuatro ensayos clínicos realizados por Chrusch et al. (2001) con dosis de 26 g creatina/día, (7 días) seguido de 6 g creatina/día (84 días); Bennett et al. (2001) con dosis de 20 g creatina/día (6 días) seguido de 6 g creatina/día (28 días); Powers et al. (2003) con dosis de 25 g creatina/día (7 días) seguido de 5,7 g creatina/día (21 días); Kilduff et al. (2003) con dosis de 22,8 g creatina/día (7 días) seguido de 5,7 g creatina/día (21 días) donde en todos ellos no observaron efectos adversos ni incremento en los niveles de creatinina urinaria. Tampoco estos estudios pueden usarse para identificar un OSL por tener un tamaño de muestra pequeño y ser de corta duración.

Otros ensayos clínicos descritos (Walter et al., 2000) (Hespel et al., 2001) (Stevenson y Dudley, 2001) (Wilder et al., 2001) (Derave et al., 2003, 2004) (Eijnde et al., 2003) (Louis et al., 2003) (Van Loon et al., 2003) (Verbesssem et al., 2003) (Tarnopolsky et al., 2004a, 2004b) (Escolar et al., 2005) con dosis de mantenimiento de 5 g creatina/día con duración de hasta 1 año en diferentes poblaciones sirven para identificar un OSL (Shao y Hathcock, 2006). En todos estos estudios no se observaron efectos adversos. El ensayo clínico realizado por Derave et al. (2004) aunque la muestra es pequeña ($n=8$) es importante y

se ha incluido también en la identificación del OSL ya que se ensayó en adultos sanos una dosis de carga de 20 g creatina/día (7 días), seguida de una dosis de mantenimiento de 5 g creatina/día (19 semanas).

En conclusión, se ha identificado un OSL de 5 g creatina/día a partir de datos sobre individuos sanos que consumen una gran variedad de dietas, aparte de la síntesis endógena propia de creatina (Shao y Hathcock, 2006). Por lo tanto, un ULS basado en datos de toxicidad a partir de ensayos clínicos en humanos es también 5 g creatina/día, con un UF (*Uncertainty Factor*) de 1,0.

Resumen de los resultados de análisis del riesgo del monohidrato de creatina teniendo en cuenta los datos de ensayos clínicos en humanos descritos en la literatura científica

- NOAEL o LOAEL en el hombre: >10 g/día.
- OSL: 5 g/día.
- ULS: ya que 5 g/día fue la dosis administrada a adultos sanos que toman una dieta normal, el OSL no necesita corrección, por lo tanto OSL=ULS=5 g/día.

11.3.5 Conclusión

El Comité Científico considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de la AESAN de una cantidad máxima diaria de 3.000 mg de monohidrato de creatina es aceptable desde el punto de vista su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un Project d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et des plantes et preparations de plantes dans la fabrication de complements alimentaires. Afssa. Saisine no 2007-SA-0231.
- Arciero, P.J., Hannibal 3rd, N.S., Nindl, B.C., Gentile, C.L., Hamed, J. y Vukovich, M.D. (2001). Comparison of creatine ingestion and resistance training on energy expenditure and limb blood flow. *Metabolism*, 50, pp: 1.429-1.434.
- Balsom, P.D., Soderlund, K. y Ekblom, B. (1994). Creatine in humans with special reference to creatine supplementation. *Sports Medicine*, 18, pp: 268-280.
- Bennett, T., Bathalon, G., Armstrong 3rd, D., Martin, B., Coll, R., Beck, R., Barkdull, T., O'Brien, K. y Deuster, P.A. (2001). Effect of creatine on performance of militarily relevant tasks and soldier health. *Military Medicine*, 166, pp: 996-1.002.
- Chrusch, M.J., Chilibeck, P.D., Chad, K.E., Davison, K.S. y Burke, D.G. (2001). Creatine supplementation combined with resistance training in older men. *Medicine and Science in Sports and exercise*, 33, pp: 2.111-2.117.
- Derave, W., Eijnde, B.O., Verbessem, P., Ramaekers, M., Van Leemputte, M., Richter, E.A. y Hespel, P. (2003). Combined creatine and protein supplementation in conjunction with resistance training promotes muscle GLUT-4 content and glucose tolerance in humans. *Journal of Applied Physiology*, 94, pp: 1.910-1.916.
- Derave, W., Marescau, B., Vanden Eede, E., Eijnde, B.O., De Deyn, P.P. y Hespel, P. (2004). Plasma guanidino compounds are altered by oral creatine supplementation in healthy humans. *Journal of Applied Physiology*, 97, pp: 852-857.
- EFSA (2004). European Food Safety Authority. Opinion of the scientific Panel on Food Additives, flavourings, Processing Aids and Materials in contact with food on a request from the Commission related to Creatine monohydrate for use in foods for particular nutritional uses. *The EFSA Journal*, 36, pp: 6.
- Eijnde, B.O., Van Leemputte, M., Goris, M., Labarque, V., Taes, Y., Verbessem, P., Vanhees, L., Ramaekers, M., Vanden Eynde, B., Van Schuylenbergh, R., Dom, R., Richter, E.A. y Hespel, P. (2003). Effects of creatine supplementation and exercise training on fitness in men 55–75 yr old. *Journal of Applied Physiology*, 95, pp: 818-828.

- Escolar, D.M., Buysse, G., Henricson, E., Leshner, R., Florence, J., Mayhew, J., Tesi-Rocha, C., Gorni, K., Pasquali, L., Patel, K.M., McCarter, R., Huang, J., Mayhew, T., Bertorini, T., Carlo, J., Connolly, A.M., Clemens, P.R., Goemans, N., Iannaccone, S.T., Igarashi, M., Nevo, Y., Pestronk, A., Subramony, S.H., Vedanarayanan, V.V. y Wessel, H. (2005). CINRG randomized controlled trial of creatine and glutamine in Duchenne muscular dystrophy. *Annals of Neurology*, 58, pp: 151-155.
- Farquhar, W.B. y Zambraski, E.J. (2002). Effects of creatine use on the athlete's kidney. *Current Sports Medicine Reports*, 1, pp: 103-106.
- OMS (2006). Organización Mundial de la salud. A Model for Establishing Upper Levels of Intake for Nutrients and Related Substances, 2006. Technical Workshop on Nutrient Risk Assessment, Geneva, Switzerland. Disponible en: http://www.who.int/ipcs/highlights/full_report.pdf [acceso: 27-11-12].
- Greenwood, M., Kreider, R.B., Greenwood, L. y Byars, A. (2003a). Cramping and injury incidence in collegiate football players are reduced by creatine supplementation. *Journal of Athletic Training*, 38, pp: 216-219.
- Greenwood, M., Kreider, R.B., Melton, C., Rasmussen, C., Lancaster, S., Cantler, E., Milnor, P. y Almada, A. (2003b). Creatine supplementation during college football training does not increase the incidence of cramping or injury. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 244, pp: 83-88.
- Groeneveld, G.J., Beijer, C., Veldink, J.H., Kalmijn, S., Wokke, J.H. y van den Berg, L.H. (2005). Few adverse effects of long-term creatine supplementation in a placebo-controlled trial. *International Journal of Sports Medicine*, 26, pp: 307-313.
- Hathcock, J. (2004). Vitamin and Mineral Safety. Council for Responsible Nutrition, Washington, DC.
- Hespel, P., Op't Eijnde, B., Van Leemputte, M., Urso, B., GreenhaV, P.L., Labarque, V., Dymarkowski, S., Van Hecke, P. y Richter, E.A. (2001). Oral creatine supplementation facilitates the rehabilitation of disuse atrophy and alters the expression of muscle myogenic factors in humans. *The Journal of Physiology*, 536, pp: 625-633.
- Ipsiroglu, O.S., Stromberger, C., Ilas, J., Hoger, H., Muhl, A. y Stockler-Ipsiroglu, S. (2001). Changes of tissue creatine concentrations upon oral supplementation of creatine-monohydrate in various animal species. *Life Sciences*, 69, pp: 1.805-1.815.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiológico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf [acceso: 27-11-12].
- Ju, J.S., Smith, J.L., Oppelt, P.J. y Fisher, J.S. (2005). Creatine feeding increases GLUT4 expression in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 288, pp: E347-E352.
- Kilduff, L.P., Pitsiladis, Y.P., Tasker, L., Attwood, J., Hyslop, P., Dailly, A., Dickson, I. y Grant, S. (2003). Effects of creatine on body composition and strength gains after 4 weeks of resistance training in previously nonresistance-trained humans. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 13, pp: 504-520.
- Kreider, R.B., Ferreira, M., Wilson, M., Grindsta, V.P., Plisk, S., Reinardy, J., Cantler, E. y Almada, A.L. (1998). Effects of creatine supplementation on body composition, strength, and sprint performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 30, pp: 73-82.
- Kreider, R.B., Melton, C., Rasmussen, C.J., Greenwood, M., Lancaster, S., Cantler, E.C., Milnor, P. y Almada, A.L. (2003). Long-term creatine supplementation does not significantly affect clinical markers of health in athletes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 244, pp: 95-104.
- Louis, M., Lebacqz, J., Poortmans, J.R., Belpaire-Dethiou, M.C., Devogelaer, J.P., Van Hecke, P., Goubel, F. y Francaux, M. (2003). Beneficial effects of creatine supplementation in dystrophic patients. *Muscle Nerve*, 27, pp: 604-610.
- Marescau, B., Nagels, G., Possemiers, I., De Broe, M.E., Because, I., Billioux, J-M., Lornoy, W. y De Deyn, P.P. (1997). Guanidino compounds in serum and urine of nondialyzed patients with chronic renal insufficiency. *Metabolism*, 46, pp: 1.024-1.031.
- Mayhew, D.L., Mayhew, J.L. y Ware, J.S. (2002). Effects of long-term creatine supplementation on liver and kidney functions in American college football players. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 12, pp: 453-460.
- Pline, K.A. y Smith, C.L. (2005). The effect of creatine intake on renal function. *Annals Pharmacotherapy*, 39, pp: 1.093-1.096.
- Poortmans, J.R. y Francaux, M. (1999). Long-term oral creatine supplementation does not impair renal function in healthy athletes. *Medicine and Science in Sports and exercise*, 31, pp: 1.108-1.110.

- Potteiger, J.A., Carper, M.J., Randall, J.C., Magee, L.J., Jacobsen, D.J. y Hulver, M.W. (2002). Changes in lower leg anterior compartment pressure before, during, and after creatine supplementation. *Journal of Athletic Training*, 37, pp: 157-163.
- Powers, M.E., Arnold, B.L., Weltman, A.L., Perrin, D.H., Mistry, D., Kahler, D.M., Kraemer, W. y Volek, J. (2003). Creatine supplementation increases total body water without altering fluid distribution. *Journal of Athletic Training*, 38, pp: 44-50.
- Robinson, T.M., Sewell, D.A., Casey, A., Steenge, G. y GreenhaV, P.L. (2000). Dietary creatine supplementation does not affect some haematological indices, or indices of muscle damage and hepatic and renal function. *British Journal of Sports Medicine*, 34, pp: 284-288.
- Ropero-Miller, J.D., Paget-Wilkes, H., Doering, P.L. y Goldberger, B.A. (2000). Effect of oral creatine supplementation on random urine creatinine, pH, and specific gravity measurements. *Clinical Chemistry*, 46, pp: 295-297.
- Rosene, J.M., Whitman, S.A. y Fogarty, T.D. (2004). A comparison of thermoregulation with creatine supplementation between the sexes in a thermoneutral environment. *Journal of Athletic Training*, 39, pp: 50-55.
- SCF (2000). Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on food on safety aspects of creatine supplementation. Disponible en: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out70_en.pdf [acceso: 27-11-12].
- Schilling, B.K., Stone, M.H., Utter, A., Kearney, J.T., Johnson, M., Coglianese, R., Smith, L., O'Bryant, H.S., Fry, A.C., Starks, M., Keith, R. y Stone, M.E. (2001). Creatine supplementation and health variables: a retrospective study. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33, pp: 183-188.
- Shao, A. y Hathcock, J. (2006). Risk assessment for creatine monohydrate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 45, pp: 242-251.
- Stevenson, S.W. y Dudley, G.A. (2001). Dietary creatine supplementation and muscular adaptation to resistive overload. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33, pp: 1.304-1.310.
- Taes, Y.E., Delanghe, J.R., Wuyts, B., van de Voorde, J. y Lameire, N.H. (2003). Creatine supplementation does not affect kidney function in an animal model with pre-existing renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 18, pp: 258-264.
- Takano, Y., Aoike, I., Geiyo, F. y Arakawa, M. (1989). Urinary excretion rate of guanidinoacetic acid as a new marker in hypertensive renal damage. *Nephron*, 52, pp: 273-277.
- Tarnopolsky, M., Mahoney, D., Thompson, T., Naylor, H. y Doherty, T.J. (2004a). Creatine monohydrate supplementation does not increase muscle strength, lean body mass, or muscle phosphocreatine in patients with myotonic dystrophy type 1. *Muscle Nerve*, 29, pp: 51-58.
- Tarnopolsky, M.A., Bourgeois, J.M., Snow, R., Keys, S., Roy, B.D., Kwiecien, J.M. y Turnbull, J. (2003). Histological assessment of intermediate and long-term creatine monohydrate supplementation in mice and rats. *American Journal of Physiology*, 285, pp: R762-R769.
- Tarnopolsky, M.A., Mahoney, D.J., Vajsar, J., Rodriguez, C., Doherty, T.J., Roy, B.D. y Biggar, D. (2004b). Creatine monohydrate enhances strength and body composition in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*, 62, pp: 1.771-1.777.
- Van Loon, L.J., Oosterlaar, A.M., Hartgens, F., Hesselink, M.K., Snow, R.J. y Wagenmakers, A.J. (2003). Effects of creatine loading and prolonged creatine supplementation on body composition, fuel selection, sprint and endurance performance in humans. *Clinical Science*, 104, pp: 153-162.
- Verbessem, P., Lemiere, J., Eijnde, B.O., Swinnen, S., Vanhees, L., Van Leemputte, M., Hespel, P. y Dom, R. (2003). Creatine supplementation in Huntington's disease: a placebo-controlled pilot trial. *Neurology*, 61, 925-930.
- Walker, J.B. (1979). Creatine: biosynthesis, regulation, and function. *Advances in Enzymology*, 50, pp: 177-242.
- Walter, M.C., Lochmuller, H., Reilich, P., Klopstock, T., Huber, R., Hartard, M., Hennig, M., Pongratz, D. y Muller-Felber, W. (2000). Creatine monohydrate in muscular dystrophies: a double-blind, placebo-controlled clinical study. *Neurology*, 54, pp: 1.848-1.850.
- Watsford, M.L., Murphy, A.J., Spinks, W.L. y Walshe, A.D. (2003). Creatine supplementation and its effect on musculotendinous stiffness and performance. *The Journal of Strength and Conditioning Research*, 17, pp: 26-33.
- Wilder, N., Deivert, R.G., Hagerman, F. y Gilders, R. (2001). The effects of low-dose creatine supplementation versus creatine loading in collegiate football players. *Journal of Athletic Training*, 36, pp: 124-129.
- Wyss, M. y Kaddurah-Daouk, R. (2000). Creatine and creatinine metabolism. *Physiological Reviews*, 80, pp: 1.107-1.213.

11.4 Glucosamina (como sulfato o clorhidrato)

11.4.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria de glucosamina de 500 mg. Dicha propuesta se basa en la existencia de una evaluación favorable en Francia considerando 500 mg/día (AFSSA, 2008) y en la autorización existente en Italia de 500 mg/día (Italia, 2012).

11.4.2 Características y fuentes

La glucosamina es un amino monosacárido (2-amino-2-deoxi-D-glucosa) soluble en agua. Es el componente principal de los glicosaminoglicanos que forman la matriz de todos los tejidos conectivos incluido el cartílago (Harris et al., 2005). Existe evidencia obtenida a lo largo de 30-40 años para afirmar que la glucosamina puede ser eficaz para aliviar el dolor originado en casos de artrosis (Deal y Moskowitz, 1999). En general los complementos dietéticos de glucosamina se presentan en las formas de glucosamina clorhidrato, glucosamina sulfato o N-acetilglucosamina. Históricamente la materia prima para los suplementos de glucosamina se obtenía a partir de la quitina (polímero de cadena larga de N-acetilglucosamina), un componente presente en los mariscos (Almada, 2003). En términos de estructura, la quitina se asemeja al polisacárido celulosa y en términos de función a la proteína queratina. Hoy en día se puede producir por fermentación a partir de una fuente vegetal. Numerosos ensayos clínicos han investigado la eficacia de compuestos de glucosamina por vía oral, a menudo en combinación con condroitin sulfato, en individuos con artrosis.

11.4.3 Nutrición y metabolismo

Se asume que la glucosamina es un factor limitante en la síntesis del componente glicosaminoglicano del cartílago. La glucosamina actúa suprimiendo o reduciendo la expresión de diversos mediadores citocinas de la degradación del cartílago articular, mediadores tales como metalomatrix proteinasa, interleucinas (IL) 1 β y 8, ciclooxigenasa (COX)-2, factor de necrosis tumoral (TNF)- α . La glucosamina actúa sinérgicamente junto con estos mediadores citocinas modulando el metabolismo de la matriz del cartílago articular (Lippiello, 2003). La glucosamina presenta una biodisponibilidad oral adecuada, en la forma sulfato excede al 90 % y en la forma clorhidrato alcanza el 100 % (Deal y Moskowitz, 1999) (Matheson y Perry, 2003) (Anderson et al., 2005) (IoM, 2005) (Persiani et al., 2007).

Se han estudiado posibles efectos de la glucosamina sobre la función de la insulina y sobre el metabolismo de la glucosa. Mounauni et al. (2000) sugieren que la glucosamina puede afectar la homeostasis de la glucosa, en base a que de forma causal, observan una activación de la fase de hexosamina. La activación de hexosamina conduce a un deterioro de la función celular- β pancreática, por lo que podría existir posibilidad de que la glucosamina pudiera aumentar el riesgo de diabetes (Kaneto et al., 2001) (Yoshikawa et al., 2002). Este posible efecto diabético de la glucosamina se ha investigado en varios ensayos clínicos con dosis diarias de 1.500 mg glucosamina clorhidrato durante 90 días (Scroggie et al., 2003) y con dosis diarias de 1.500 mg de glucosamina sulfato durante 12 semanas (Tannis et al., 2004) concluyendo que no se origina ningún efecto adverso en relación a la glucosamina y el metabolismo de la glucosa.

11.4.4 Seguridad

Existen numerosas publicaciones de ensayos clínicos realizados en humanos para evaluar la eficacia de la glucosamina en la artrosis que también contienen información muy útil en relación con la seguridad. Ninguno de estos ensayos clínicos ha encontrado efectos adversos significativos en relación con el consumo de glucosamina (Deal y Moskowitz, 1999) (Reginster et al., 2001) (Pavelka et al., 2002) (Richy et al., 2003) (Zerkak y Dougados, 2004) (Clegg et al., 2006). En ensayos clínicos de 3 años de duración tampoco se evidencian diferencias en efectos adversos entre los grupos tratados con el placebo y los tratados con glucosamina (Reginster et al., 2001) (Pavelka et al., 2002). La conclusión de estos estudios es la ausencia de efectos adversos significativos (Drovanti et al., 1980) (Pujalte et al., 1980) (Muller-Fassbender et al., 1994) (Noack et al., 1994) (Braham et al., 2003) (McAlindon et al., 2004) (Clegg et al., 2006). Otros ensayos clínicos en humanos también concluyen que existe seguridad en el uso de la glucosamina (Matheson y Perry, 2003) (Bruyere et al., 2004).

Un gran número de estudios en animales de experimentación y estudios *in vitro* dirigidos a evaluar la seguridad así como también el metabolismo y efectos metabólicos de la glucosamina se han revisado con detalle por Anderson et al. (2005). La DL_{50} del clorhidrato glucosamina es superior a 5.000 mg/kg p.c., y el NOAEL es 2.700 mg/kg p.c. en la rata y 2.149 mg/kg p.c. en el perro (Anderson et al., 2005). Asumiendo un peso corporal en el hombre de 60 kg, una dosis diaria de 1.500 mg en humanos equivaldría a 25 mg/kg p.c., y una dosis diaria de 2.000 mg a 33 mg/kg p.c. Por lo tanto la extrapolación de los numerosos datos recogidos en estudios de toxicidad *in vivo* e *in vitro* sugieren la baja probabilidad de que aparezcan efectos adversos que en el hombre.

En los estudios realizados en humanos, ningún ensayo clínico ha detectado efectos adversos relacionados con la administración de glucosamina (ni en forma sulfato, ni en forma clorhidrato), por lo tanto por definición no existe base para identificar un LOAEL para el hombre. En ausencia de LOAEL, no es usual fijar un NOAEL. Sin estos dos valores, no es apropiado establecer un UL (IoM, 1998)

La dosis de glucosamina utilizada en la mayoría de los ensayos clínicos publicados es 1.500 mg/día. Solamente existe un ensayo clínico con dosis de 2.000 mg de glucosamina clorhidrato, y tampoco se observaron efectos adversos. Existen muchos datos que permiten identificar 1.500 mg de glucosamina sulfato como el OSL, pero también un ensayo clínico con 2.000 mg de glucosamina clorhidrato permite identificar un OSL en 2.000 mg glucosamina clorhidrato, que puede también ser usado para glucosamina sulfato. El OSL para glucosamina fijado en 2.000 mg es también identificado como el ULS. La advertencia de precaución de efectos alérgenos es apropiada y requerida solo para aquellos productos que incluyen glucosamina de origen de mariscos.

Debido a los numerosos datos de ensayos clínicos existentes en humanos se puede identificar el valor del OSL sin necesidad de utilizarse los datos obtenidos en animales de experimentación.

Para el complemento alimenticio de glucosamina, en base a los datos publicados obtenidos en ensayos clínicos en humanos, ensayos bien diseñados, aleatorios y controlados, con metaanálisis y alto nivel de confianza en el análisis de sus resultados, Hathcok y Shao (2007) sugieren la siguiente evaluación de riesgo:

- Ausencia de un efecto crítico bien definido para la selección de un NOAEL o LOAEL.
- OSL: 2.000 mg glucosamina (en forma sulfato, y en forma clorhidrato).

- ULS: 2.000 mg/día.

11.4.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de una cantidad máxima diaria de glucosamina como complemento alimenticio de 500 mg presentada por la AESAN y basada en los informes previos de Francia e Italia, así como también teniendo en cuenta la bibliografía consultada y descrita en el presente informe es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un Project d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et des plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires. Afssa. Saisine no 2007-SA-0231.
- Almada, A.L. (2003). Glucosamine Shell Game Revisited. En libro: *Functional Foods and Nutraceuticals*. Ed. Elsevier Science Pub.B.U. ISBN: 978012373901.
- Anderson, J.W., Nicolosi, R.J. y Borzelleca, J.F. (2005). Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy. *Food and Chemical Toxicology*, 43, pp: 187-201.
- Braham, R., Dawson, B. y Goodman, C. (2003). The effect of glucosamine supplementation on people experiencing regular knee pain. *British Journal of Sports Medicine*, 37, pp: 45-49.
- Bruyere, O., Pavelka, K., Rovati, L.C., Deroisy, R., Olejarova, M., Gatterova, J., Giacovelli, G. y Reginster, J.Y. (2004). Glucosamine sulfate reduces osteoarthritis progression in postmenopausal women with knee osteoarthritis: evidence from two 3-year studies. *Menopause*, 11, pp: 138-143.
- Clegg, D.O., Reda, D.J., Harris, C.L., Klein, M.A., O'Dell, J.R., Hooper, M.M., Bradley, J.D., Bingham, C.O., Weisman, M.H., Jackson, C.G., Lane, N.E., Cush, J.J., Moreland, L.W., Schumacher Jr., H.R., Oddis, C.V., Wolfe, F., Molitor, J.A., Yocum, D.E., Schnitzer, T.J., Furst, D.E., Sawitzke, A.D., Shi, H., Brandt, K.D., Moskowitz, R.W. y Williams, H.J. (2006). Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *New England Journal of Medicine*, 354, pp: 795-808.
- Deal, C.L. y Moskowitz, R.W. (1999). Nutraceuticals as therapeutic agents in osteoarthritis. The role of glucosamine, chondroitin sulfate, and collagen hydrolysate. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 25, pp: 379-395.
- Drovanti, A., Bignamini, A.A. y Rovati, A.L. (1980). Therapeutic activity of oral glucosamine sulfate in osteoarthrosis: a placebo-controlled double-blind investigation. *Clinical Therapeutics*, 3, pp: 260-272.
- Harris, E.D., Budd, R.C., Firestein, G.S., Genovese, M.C., Sergent, J.S., Ruddy, S. y Sledge, C.B. (2005). Structure and Function of Bone, Joints, and Connective Tissue, Kelley's Textbook of Rheumatology.
- Hathcock, J.N. y Shao, A. (2007). Risk assessment for glucosamine and chondroitin sulfate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 47, pp: 78-83.
- IoM (1998). Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes: A Risk Assessment Model for Establishing Upper Intake Levels for Nutrients. Institute of Medicine of the National Academies. National Academy Press, Washington, DC.
- IoM (2005). Institute of Medicine. Glucosamine: Prototype Monograph Summary. Dietary Supplements: A Framework for Evaluating Safety. Institute of Medicine of the National Academies. National Academy Press, Washington, DC, pp: 363-366, Appendix E.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiológico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_paginaArea_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf2008 [acceso: 27-11-12].
- Kaneto, H., Xu, G., Song, K.H., Suzuma, K., Bonner-Weir, S., Sharma, A. y Weir, G.C. (2001). Activation of the hexosamine

pathway leads to deterioration of pancreatic beta-cell function through the induction of oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry* 276, pp: 31.099-31.104.

- Lippiello, L. (2003). Glucosamine and chondroitin sulfate: biological response modifiers of chondrocytes under simulated conditions of joint stress. *Osteoarthritis Cartilage*, 11 (5), pp: 335-342.
- Matheson, A.J. y Perry, C.M. (2003). Glucosamine: a review of its use in the management of osteoarthritis. *Drugs Aging*, 20, pp: 1.041-1.060.
- McAlindon, T., Formica, M., LaValley, M., Lehmer, M. y Kabbara, K. (2004). Effectiveness of glucosamine for symptoms of knee osteoarthritis: results from an internet-based randomized double-blind controlled trial. *American Journal of Medicine*, 117, pp: 643-649.
- Monauni, T., Zenti, M.G., Cretti, A., Daniels, M.C., Targher, G., Caruso, B., Caputo, M., McClain, D., Del Prato, S., Giaccari, A., Muggeo, M., Bonora, E. y Bonadonna, R.C. (2000). Effects of glucosamine infusion on insulin secretion and insulin action in humans. *Diabetes*, 49, pp: 926-935.
- Muller-Fassbender, H., Bach, G.L., Haase, W., Rovati, L.C. y Setnikar, I. (1994). Glucosamine sulfate compared to ibuprofen in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage*, 2, pp: 61-69.
- Noack, W., Fischer, M., Forster, K.K., Rovati, L.C. y Setnikar, I. (1994). Glucosamine sulfate in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage*, 2, pp: 51-59.
- Pavelka, K., Gatterova, J., Olejarova, M., Machacek, S., Giacovelli, G. y Rovati, L.C. (2002). Glucosamine sulfate use and delay of progression of knee osteoarthritis: a 3-year, randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Archives of Internal Medicine*, 162, pp: 2.113-2.123.
- Persiani, S., Rotini, R., Trisolino, G., Rovati, L.C., Locatelli, M., Paganini, D., Antonioli, D. y Roda, A. (2007). Synovial and plasma glucosamine concentrations in osteoarthritic patients following oral crystalline glucosamine sulphate at therapeutic dose. *Osteoarthritis Cartilage*, 15 (7), pp: 764-772.
- Pujalte, J.M., Llavore, E.P. y Ylescupidéz, F.R. (1980). Double-blind clinical evaluation of oral glucosamine sulphate in the basic treatment of osteoarthrosis. *Current Medical. Research and Opinion*, 7, pp: 110-114.
- Reginster, J.Y., Deroisy, R., Rovati, L.C., Lee, R.L., Lejeune, E., Bruyere, O., Giacovelli, G., Henrotin, Y., Dacre, J.E. y Gossett, C. (2001). Long-term effects of glucosamine sulphate on osteoarthritis progression: a randomised, placebo-controlled clinical trial. *Lancet*, 357, pp: 251-256.
- Richy, F., Bruyere, O., Ethgen, O., Cucherat, M., Henrotin, Y. y Reginster, J.Y. (2003). Structural and symptomatic efficacy of glucosamine and chondroitin in knee osteoarthritis: a comprehensive meta-analysis. *Archives of Internal Medicine*, 163, pp: 1.514-1.522.
- Scroggie, D.A., Albright, A. y Harris, M.D. (2003). The effect of glucosaminechondroitin supplementation on glycosylated hemoglobin levels in patients with type 2 diabetes mellitus: a placebo-controlled, doubleblinded randomized clinical trial. *Archives of Internal Medicine*, 163, pp: 1.587-1.590.
- Tannis, A.J., Barban, J. y Conquer, J.A. (2004). Effect of glucosamine supplementation on fasting and non-fasting plasma glucose and serum insulin concentrations in healthy individuals. *Osteoarthritis Cartilage*, 12, pp: 506-511.
- Yoshikawa, H., Tajiri, Y., Sako, Y., Hashimoto, T., Umeda, F. y Nawata, H. (2002). Glucosamine-induced beta-cell dysfunction: a possible involvement of glucokinase or glucose-transporter type 2. *Pancreas*, 24, pp: 228-234.
- Zerkak, D. y Dougados, M. (2004). The use of glucosamine therapy in osteoarthritis. *Current Pain Headache Report*, 8, pp: 507-511.

11.5 Hexafosfato de inositol

11.5.1 Propuesta

La AESAN ha propuesto una cantidad máxima diaria para el inositol hexafosfato de 2.000 mg. Dicha propuesta se basa en la existencia en la evaluación favorable de esta sustancia en Francia considerando 2.000 mg/día de inositol hexafosfato (AFSSA, 2008) y en la autorización en Italia de 2.000 mg/día (Italia, 2012).

El Reglamento (CE) N° 953/2009 (UE, 2009) incluye al inositol entre las sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. En concreto, pueden añadirse en los alimentos dietéticos destinados a una alimentación especial, incluidos los alimentos destinados a usos médicos especiales, con exclusión de los preparados para lactantes, los preparados de continuación, los alimentos elaborados a base de cereales y los alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad.

Por su parte, la Directiva 2006/141/CE (UE, 2006) relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y su transposición en España a través del Real Decreto 867/2008 (BOE, 2008) permite, al establecer la composición básica de los preparados para lactantes cuando se reconstituyen de acuerdo con las instrucciones del fabricante, la utilización de inositol en una concentración mínima de 1 mg/100 kJ (4 mg/100 kcal) y máxima de 10 mg/100 kJ (40 mg/100 kcal).

El inositol figura en el informe de la Comisión Europea sobre sustancias presentes en complementos alimenticios en la Unión Europea (DG SANCO, 2008).

En Dinamarca el inositol está autorizado en complementos alimenticios en una cantidad total máxima que no debe superar los 50 mg por dosis diaria recomendada (Dinamarca, 2011).

11.5.2 Características y fuentes

El inositol es un poliol cíclico, fórmula molecular $C_6H_{12}O_6$, cuyo isómero activo es el mio-inositol o monofosfato de inositol. El inositol y sus derivados fosforados son interconvertibles fisiológicamente y están presentes en un intervalo de 0,01-1,0 mM en la mayoría de las células.

En 1914, Anderson presentó la estructura molecular del mio-inositol hexafosfato también denominado ácido fítico, estructura que fue confirmada posteriormente por técnicas analíticas más precisas (Johnson y Tate, 1969) (Barrientos y Murthy, 1996).

El fitato, la sal del ácido fítico, se encuentra ampliamente distribuido en las plantas, es una forma de almacenamiento de fósforo y minerales, alrededor de un 75 % del fósforo total está presente principalmente en los granos o semillas (Raboy, 2003). Otras partes de las plantas, tales como las raíces y tubérculos son pobres en fitatos (alrededor de un 0,1 % del total) (Phillippy et al., 2003). Además de fitato, otros fosforados de inositol como inositol pentafosforados e inositol tetrafosforados están también presentes en las semillas, pero en menor proporción (alrededor de un 15 %). Durante la germinación de las semillas, el fitato se hidroliza y libera minerales tales como calcio y magnesio para la germinación y el desarrollo de la semilla (Tabekhia y Luh, 1980) (Beal y Mehta, 1985).

El fitato se encuentra mayoritariamente presente en los alimentos no procesados. Se estima que la ingesta diaria de fitato u otros fosforados de inositol varía en un intervalo de 0,3 a 2,6 g, y para el caso de una dieta vegetariana puede llegar hasta valores de 4,6 g (Reddy, 2002). La mayoría de cereales, legum-

bres, frutos secos, aceites de semillas y soja contienen fitato en un 0,5 a un 6,4 % del peso seco o incluso mayor cantidad; el inositol hexafosfato está mayoritariamente unido a iones de calcio y magnesio. El fitato es estable a la temperatura de cocción pero puede ser hidrolizado durante el procesado por acción de las fitasas (Schlemmer et al., 1995) (Sandberg y Andlid, 2002).

Durante décadas se ha considerado el fitato como un "antinutriente", ya que en su paso gastrointestinal puede inhibir la absorción de algunos elementos trazas esenciales y algunos minerales, lo que bajo ciertas circunstancias dietéticas puede provocar deficiencias en calcio, hierro y cinc (McCance y Widdowson, 1942) (Halsted et al., 1972). En este sentido, se han llevado a cabo numerosas investigaciones con el objeto de liberar el fitato de los alimentos y evitar así la deficiencia en minerales y elementos trazas esenciales.

Sin embargo, en los últimos 30 años, se han estudiado propiedades beneficiosas del fitato que incluyen actividades antioxidantes y anticancerosas (Graf et al., 1987) (Shamsuddin, 1995), inhibición de la cristalización de sales de calcio y prevención de formación de cálculos renales (Grases y Costa-Bouza, 1999), disminución de los niveles de glucosa y del colesterol en sangre (Jariwalla et al., 1990) (Lee et al., 2006, 2007). Todos estos hallazgos han provocado en la comunidad científica numerosas discusiones sobre el papel y significancia del fitato y otros fosfatos de inositol en la nutrición humana y sobre sus propiedades beneficiosas sobre la salud. La actual demanda de la población en la mejora de la biodisponibilidad de minerales y elementos traza para ayudar a prevenir cáncer, formación de cálculos renales u otras enfermedades propias de la sociedad actual, hace que hoy en día se contemple al fitato como un complemento alimenticio y que el término "antinutriente" permanezca ya en el pasado.

11.5.3 Nutrición y metabolismo

Se ha demostrado en el hombre que un 37-66 % del fitato se degrada durante la digestión en el estómago e intestino delgado cuando la dieta es rica en alimentos de origen vegetal que contienen fitasas (Sandberg y Anderson, 1988). Sin embargo, teniendo en cuenta que la mayoría de cereales y legumbres se ingieren una vez procesados o cocinados, procesos que inactivan en gran medida a las fitasas, la degradación del fitato en el estómago e intestino delgado por la presencia de fitasas es muy limitada. En el hombre existe evidencia de que la hidrólisis principal del fitato ocurre en el intestino grueso debido a las fitasas de origen microbiano.

Diferentes estudios realizados en cultivos celulares, en ratas y en humanos evidencian la absorción del fitato, pero el mecanismo de absorción no está claro. La absorción de fitato en el hombre esta correlacionada con la cantidad de fitato consumido y el incremento observado en la concentración sanguínea y en la excreción urinaria de fitato (Grases et al., 2000a, 2001c, 2006). Resultados similares fueron encontrados en ratas (Grases et al., 2001a, 2001b). Dado que la absorción del fitato presente en la dieta es independiente del estado de llenado del estómago (Grases et al., 2006), se asume que la absorción del fitato probablemente tiene lugar en el intestino delgado, aunque existen estudios que demuestran que la absorción en el intestino es muy baja y no excede a un pequeño porcentaje ≤ 2 % (Grases et al., 2000b). De cualquier forma, existe un gran número de estudios *in vitro* e *in vivo* que demuestran determinadas actividades tras la aplicación del fitato sódico o fitato cálcico-magnésico, de los que se deduce que el fitato o sus productos de degradación se absorben en el intestino (Grases y Costa-Bouza, 1999) (Vucenik

y Shamsuddin, 2006). No obstante, se necesitan más estudios para esclarecer el hecho de que el fitato pueda ser hidrolizado completamente en el intestino y posteriormente refosforilado intracelularmente tras su absorción, o el hecho de que pueda ser absorbido vía transportadores activos, por pinocitosis u otras vías de absorción o por combinación entre ellas.

Los datos recogidos de diferentes revisiones sobre la ingesta media diaria de fitato en humanos en diferentes países muestran diferencias en función del sexo y de la edad, así como según se trate de áreas urbanas y rurales, de países industrializados o en desarrollo.

En general, para adultos, los diferentes valores de ingesta diaria de fitato sugeridos son los siguientes (Schlemmer et al., 2009):

- Aportes bajos de 200 a 350 mg/día, probablemente debido a dietas de estilo occidental bajas en alimentos a base de vegetales ricos en fitato.
- Aportes medios de 500 a 800 mg/día, probablemente debido a dietas de estilo occidental con porciones enriquecidas de cereales, semillas u otros alimentos ricos en fitato.
- Aportes altos >1.000 mg/día, probablemente debido a dietas ricas en vegetales y alimentos que contienen fitato tales como dietas vegetarianas.

En los países en desarrollo, debido al alto contenido de cereales y legumbres en su dieta tradicional, la ingesta diaria de fitato alcanza valores altos de hasta 2.000 mg/día e incluso superiores.

Los datos recogidos de diversas publicaciones sobre la ingesta diaria de ácido fítico/fitato en la Unión Europea alcanzan los siguientes valores:

- En el Reino Unido (adultos, 40 años de edad), 500-1.436 mg/día.
- En Italia, 112-1.367 mg/día.
- En Suecia (dietas vegetarianas), 500-2.927 mg/día.

11.5.4 Seguridad

Existen numerosos estudios en humanos que, aunque están dirigidos a evaluar sus propiedades beneficiosas y no a su seguridad, si pueden servir de base para aceptar la seguridad de su uso (Jenab y Thompson, 1998) (Shamsuddin, 2002) (Grases et al., 2004, 2007a, 2007b) (Engelman et al., 2005) (Lee et al., 2005, 2006) (Vucenik y Shamsuddin, 2006).

Las diferentes evaluaciones realizadas para el fitato (inositol hexafosfato) no han revelado riesgos para la salud de los consumidores. Diversos estudios clínicos realizados para valorar la eficacia del inositol en diferentes situaciones patológicas no han evidenciado efectos adversos agudos atribuibles al fitato.

Estudios en modelos animales

Existen estudios en animales sobre los efectos del mio-inositol sobre el metabolismo lipídico (Yagi y Kotaki 1969) (Shepherd y Taylor, 1974) (Okazaki et al., 2006), sobre el cáncer de pulmón (Estensen et al., 2004) (Witschi et al., 2004), sobre neuropatía (Nakamura et al., 1997) y sobre la catarata diabética (Beyer-Mears et al., 1989), cuando se incorpora en la dieta de 0,2 a 3 %. En estos estudios no se observaron efectos adversos.

Estudios en humanos

Se han realizado ensayos de suplementación en humanos con respecto a la neuropatía diabética (Agostini et al., 2006), trastornos del estado de ánimo, la retinopatía premadura específica (Friedman et al., 2000) o en la prevención del cáncer de pulmón (Lam et al., 2006). En estos estudios no se observaron efectos adversos.

En dos ensayos realizados por Lam et al. (2006), se evaluó el efecto del mio-inositol administrado en dosis crecientes desde 12 hasta 30 g/día, a 16 sujetos durante 1 mes. Los efectos adversos observados únicamente fueron trastornos gastrointestinales leves. La dosis máxima diaria sin efectos adversos se pudo determinar en 18 g/día. En un segundo ensayo se evaluó los efectos del mio-inositol en 10 sujetos a una dosis de 18 g/día durante 3 meses, no observándose efectos adversos.

11.5.5 Conclusión

El Comité Científico considera que, en función de la información disponible en la actualidad y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, la propuesta de una cantidad máxima diaria de inositol (hexafosfato) de 2.000 mg presentada por la AESAN, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- AFSSA (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un Project d'arrêté relatif a l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et des plantes et preparations de plantes dans la fabrication de complements alimentaires. Afssa. Saisine N° 2007-SA-0231.
- Agostini, R., Rossi, F. y Pajalich, R. (2006). Myoinositol/folic acid combination for the treatment of erectile dysfunction in type 2 diabetes men: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 10, pp: 247-250.
- Anderson, R.J. (1914). A contribution to the chemistry of phytin. *The Journal of Biological Chemistry*, 17, pp: 171-190.
- Barrientos, L.G. y Murthy, P.P.N. (1996). Conformational studies of myo-inositol phosphates. *Carbohydrate Research*, 296, pp: 39-54.
- Beal, L. y Mehta, T. (1985). Zn and phytate distribution in peas. Influence of heat treatment, germination, pH, substrate, and phosphorous on pea phytate and phytase. *Journal of Food Science*, 50, pp: 96-100.
- Beyer-Mears, A., Bucci, F.A.Jr., Del Val, M. y Cruz, E. (1989). Dietary myo-inositol effect on sugar cataractogenesis. *Pharmacology*, 39, pp: 59-68.
- BOE (2008). Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación. BOE 131 de 30 de mayo de 2008, pp: 25.121-25.137.
- DG SANCO (2008). Directorate Generale for Health and Consumers. Characteristics and perspectives of the market for food supplements containing substances other than vitamins and minerals. Commission staff working document. COM (2008)824 final. SEC (2008)2977.
- Dinamarca (2011). Lovtidende A. Bekendtgørelse om tilsaetning af visse andre stoffer end vitaminer og mineraler til fodevarer. Udgivet den 13 august 2011, Nr 888, 12 august 2011.
- Engelman, H.M., Alekel, D.L., Hanson, L.N., Kanthasamy, A.G. y Reddy, M.B. (2005). Blood lipid and oxidative stress responses to soy protein with isoflavones and phytic acid in postmenopausal women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81, pp: 590-596.
- Estensen, R.D., Jordan, M.M., Wiedmann, T.S., Galbraith, A.R., Steele, V.E. y Wattenberg, L.W. (2004). Effect of che-

- mopreventive agents on separate stages of progression of benzo[alpha]pyrene induced lung tumors in A/J mice, *Carcinogenesis*, 25, pp: 197-201.
- Friedman, C.A., McVey, J., Borne, M.J., James, M., May, W.L., Temple, D.M., Robbins, K.K., Miller, C.J. y Rawson, J.E. (2000). Relationship between serum inositol concentration and development of retinopathy of prematurity: a prospective study. *Journal of Pediatric Ophthalmology and Strabismus*, 37, pp: 79-86.
- Graf, E., Empson, K.L. y Eaton, J.W. (1987). Phytic acid-A natural antioxidant. *The Journal of Biological Chemistry*, 262, pp: 11.647-11.650.
- Grases, F. y Costa-Bauza, A. (1999). Phytate (IP6) is a powerful agent for preventing calcifications in biological fluids: usefulness in renal lithiasis treatment. *Anticancer Reserch*, 19, pp: 3.717-3.722.
- Grases, F., March, J.G., Prieto, R.M., Simonet, B.M., Costa-Bauzá, A., García-Raja, A. y Conte, A. (2000a). Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 34, pp: 162-164.
- Grases, F., Simonet, B.M., March, J.G. y Prieto, R.M. (2000b). Inositol hexakisphosphate in urine: The relationship between oral intake and urinary excretion. *BJUI International*, 85, pp: 138-142.
- Grases, F., Simonet, B.M., Prieto, R.M. y March, J.G. (2001a). Variation of InsP4, InsP5 and InsP6 levels in tissues and biological fluids depending on dietary phytate. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 12, pp: 595-601.
- Grases, F., Simonet, B.M., Prieto, R.M. y March, J.G. (2001b). Phytate levels in diverse rat tissues: influence of dietary phytate. *British Journal of Nutrition*, 86, pp: 225-231.
- Grases, F., Simonet, B.M., Vucenik, I., Prieto, R.M., Costa-Bauz, A., Marcha, J.G. y Shamsuddin, A.M. (2001c). Absorption and excretion of orally administered inositol hexaphosphate (IP6 or phytate) in humans. *Biofactors*, 15, pp: 53-61.
- Grases, F., Perello, J., Prieto, R.M., Simonet, B.M. y Torres, J.J. (2004). Dietary myo-inositol hexaphosphate prevents dystrophic calcifications in soft tissues: A pilot study in Wistar rats. *Life Sciences*, 75, pp: 11-19.
- Grases, F., Costa-Bauza, A., Perello, J., Isern, B., Vucenik, I. Valiente, M. Muñoz, J.A. y Prieto R.M. (2006). Influence of concomitant food intake on the excretion of orally administered myo-inositol hexaphosphate in humans. *Journal of Medicinal Food*, 9, pp: 72-76.
- Grases, F., Isern, B., Sanchis, P., Perello, J., Torres, J.J. y Costa-Bauza, A. (2007a). Phytate acts as an inhibitor in formation of renal calculi. *Frontiers in Bioscience*, 12, pp: 2.580-2.587.
- Grases, F., Sanchis, P., Perello, J., Isern, B., Prieto, R.M., Fernández-Palomeque, C. y Torres, J.J. (2007b). Effect of crystallization inhibitors on vascular calcifications induced by vitamin d: A pilot study in Sprague-Dawley rats. *Circulation Research*, 71, pp: 1.152-1.156.
- Halsted, J., Ronaghy, H., Abadi, P., Copper, R.L., Johnston, K.E., DuBard, M.B. y Hauth, J.C. (1972). Zinc deficiency in man: the Shiraz experiment. *American Journal Medicine*, 53, pp: 277-284.
- Italia (2012). Elenco sostanze ad effetto nutritivo o fisiológico impiegabili negli integratori alimentari. Disponible en: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf2008 [acceso: 27-11-12].
- Jariwalla, R.J., Sabin, R., Lawson, S. y Herman, Z.S. (1990). Lowering of serum cholesterol and triglycerides and modulation of divalent cations by dietary phytate. *Journal of Applied Nutrition*, 42, pp: 18-28.
- Jenab, M. y Thompson, L.U. (1998). The influence of phytic acid in wheat bran on early biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 19, pp: 1.087-1.092.
- Johnson, L.F. y Tate, M.E. (1969). Structure of phytic acids. *Canadian Journal of Chemistry*, 47, pp: 63-73.
- Lam, S., McWilliams, A., LeRiche, J., MacAulay, C., Wattenberg, L. y Szabo, E. (2006). A phase I study of myo-inositol for lung cancer chemoprevention. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 15, pp: 1.526-1.531.
- Lee, S.H., Park, H.J., Cho, S.Y., Jung, H.J., Cho, S.M. y Lillehoj, H.S. (2005). Effects of dietary phytic acid on serum and hepatic lipid levels in diabetic KK mice. *Nutrition Reserch*, 25, pp: 869-876.
- Lee, S.H., Park, H.J., Chung, H.K., Cho, S.Y., Cho, Y.S. y Lillehoj, H.S. (2006). Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. *Nutrition Reserch*, 26, pp: 474-479.
- Lee, S.H., Park, H.J., Chung, H.K., Cho, S.Y., Jung, H.J., Cho, S.M., Kim, D.Y., Kang, M.S. y Lillehoj, H.S. (2007). Dietary

phytic acid improves serum and hepatic lipid levels in aged ICR mice fed a high-cholesterol diet. *Nutrition Research*, 27, pp: 505-510.

- McCance, R.A. y Widdowson, E.M. (1942). Mineral metabolism of healthy adults on white and brown bread dietaries. *The Journal of Physiology*, 101, pp: 44-85.
- Nakamura, J., Koh, N., Sakakibara, F., Hamada, Y., Wakao, T., Sasaki, H., Mori, K., Nakashima, E., Naruse, K. y Hotta, N. (1997). Diabetic neuropathy in sucrose-fed Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats: effect of an aldose reductase inhibitor, TAT. *Life Sciences*, 60, pp: 1.847-1.857.
- Okazaki, Y., Setoguchi, T. y Katayama, T. (2006). Effects of dietary myo-inositol, D-chiro-inositol and L-chiro-inositol on hepatic lipids with reference to the hepatic myo-inositol status in rats fed on 1,1,1-trichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70, pp: 2.766-2.770.
- Phillippy, B.Q., Bland, J.M. y Evens, T.J. (2003). Ion chromatography of phytate in roots and tubers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, pp: 350-353.
- Raboy, V. (2003). Myo-Inositol-1,2,3,4,5,6-hexakisphosphates. *Phytochemistry*, 64, pp: 1.033-1.043.
- Reddy, N.R. (2002). Occurrence, distribution, content and dietary intake of phytate. En libro: Food Phytates. Reddy, N.R., Sathe, S.K. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, DC, pp: 25-51.
- Sandberg, A.S. y Andersson, H. (1988). Effect of dietary phytases on the digestion of phytate in the stomach and small intestine of humans. *Journal of Nutrition*, 118, pp: 469-473.
- Sandberg, A.S. y Andlid, T. (2002). Phytogetic and microbial phytases in human nutrition. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, pp: 823-833.
- Schlemmer, U., Muller, H. y Jany, K.D. (1995). The degradation of phytic acid in legumes prepared by different methods. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49, pp: 207-210.
- Schlemmer, U., Frølich, W., Prieto, R.M. y Grases, F. (2009). Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53, pp: S330-S375.
- Shamsuddin, A.M. (1995). Inositol phosphates have novel anticancer function. *Journal Nutrition*, 125, pp: 725S-732S.
- Shamsuddin, A.M. (2002). Anti-cancer function of phytic acid. *International Journal of Food Science & Technology*, 37, pp: 769-782.
- Shepherd, N.D. y Taylor, T.G. (1974). Proceedings: The lipotropic action of myo-inositol. *Proceedings of the Nutrition Society*, 33, pp: 64A-65A.
- Tabekhia, M.M. y Luh, B.S. (1980). Effect of germination, cooking, and canning on phosphorous and phytate retention in dry beans. *Journal of Food Science*, 45, pp: 406-408.
- UE (2006). Directiva 2006/141/CE de la Comisión, de 22 de diciembre de 2006, relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y por la que se modifica la Directiva 1999/21/CE. DO L 401 de 30 de diciembre de 2006, pp: 1-33.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 953/2009 de la Comisión, de 13 de octubre de 2009, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 269 de 14 de octubre de 2009, pp: 9-19.
- Vucenik, I. y Shamsuddin, A.M. (2006). Protection against cancer by dietary IP6 and inositol. *Nutrition Cancer*, 55, pp: 109-125.
- Witschi, H., Espiritu, I., Ly, M. y Uyeminami, D. (2004). The effects of dietary myoinositol on lung tumor development in tobacco smoke-exposed mice. *Inhalation Toxicology*, 16, pp: 195-201.
- Yagi, K. y Kotaki, A. (1969). The effect of massive doses of myo-inositol on hepatic phospholipid metabolism. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 165, pp: 710-725.

Análisis de residuos de fenilbutazona en músculo de caballo

José Blanca, Regina Muñoz, Patricia Muñoz, Ángela Aranda, Rosario Díaz y Mercedes Martín de Pozuelo

Unidad de Zoonosarios. Centro Nacional de Alimentación. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad

Resumen

La fenilbutazona es un medicamento de uso en veterinaria perteneciente a los denominados antiinflamatorios no esteroideos (AINES), no estando autorizado para su uso en animales que se destinan a la cadena alimentaria. Ante la reciente detección en la Unión Europea de carne de caballo en productos elaborados que, según el etiquetado, sólo contenían carne de bovino, la Comisión Europea publicó la Recomendación 2013/99/UE sobre un plan coordinado de control para establecer la prevalencia de prácticas fraudulentas en la comercialización de determinados alimentos. Además del control de la presencia de carne de caballo en productos alimenticios comercializados o etiquetados como de carne de vacuno (Acción I), la Recomendación incluye el control de fenilbutazona en carne de caballo destinada al consumo humano (Acción II). Con el fin de dar respuesta a dicha Recomendación, el Centro Nacional de Alimentación (CNA) de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha puesto a punto y ha validado conforme a la Decisión de la Comisión 2002/657/CE un método analítico de confirmación basado en LC-MS/MS, con un Límite de Decisión ($CC\alpha$) de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$. El método desarrollado se basa en una extracción con acetonitrilo en medio ácido, seguida de una extracción líquido-líquido con n-hexano y una posterior purificación con cartuchos SPE C_{18} .

Finalmente la determinación se realiza por LC-MS/MS con una sonda *electrospray* en modo negativo (ESI⁻). La cuantificación se lleva a cabo mediante rectas de calibrado externas, sin matriz.

Siguiendo la Recomendación 2013/99/UE, durante el mes de marzo se tomaron en España, en diez comunidades autónomas diferentes, un total de 108 muestras de músculo de caballo. Todas ellas fueron analizadas en el CNA y en ningún caso se detectaron residuos de fenilbutazona.

Palabras clave

AINES, fenilbutazona, carne de caballo, músculo de caballo, SPE, LC-MS/MS.

Analysis of Phenylbutazone residues in horse muscle.

Abstract

Phenylbutazone is a veterinary medicine belonging to the family of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID), and is not authorised to be used in the treatment of animals destined for the human food chain. Following the recent identification in the European Union of horse-meat in processed products which, according to the label, only contained beef meat, the European Commission published Recommendation 2013/99/EU on a coordinated control plan with a view to establish the prevalence of fraudulent practices in the marketing of certain foods. In addition to the control of the presence of horse-meat in food products marketed or labelled as containing beef (Action I), the Recommendation includes the control of phenylbutazone in horse-meat destined for human consumption (Action II). To respond to this Recommendation, the National Centre for Food (CNA) of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) has set up and validated in accordance with Commission Decision 2002/657/EC an analytical method of confirmation based on LC-MS/MS, with a Decision Limit ($CC\alpha$) of 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The method developed is based on an acidic acetonitrile extraction, followed by a liquid-liquid extraction and subsequent solid phase extraction (SPE) with C_{18} cartridges.

Lastly the determination is made using LC-MS/MS with an electrospray probe in negative mode (ESI). Quantification uses an external calibration curve without matrix.

In accordance with Recommendation 2013/99/EU, a total of 108 samples were taken from horse muscle in ten different Autonomous Regions in Spain during March. The samples were all analysed at the CNA and no traces of phenylbutazone were detected in any case.

Key words

NSAID, phenylbutazone, horse-meat, horse muscle, SPE, LC-MS/MS.

Introducción

La fenilbutazona (FBZ) es un medicamento perteneciente a los denominados antiinflamatorios no esteroideos, más conocidos por el acrónimo AINES. La fenilbutazona fue usada por primera vez en medicina humana en 1949 para el tratamiento de la gota y la artritis reumatoide. Hoy en día, debido a sus efectos secundarios, únicamente se utiliza en pacientes que no responden a otros tratamientos.

En veterinaria, la fenilbutazona se utiliza para el tratamiento de dolencias del sistema músculo-esquelético en caballos de competición y animales de compañía, nunca en los animales destinados a la cadena alimentaria.

El uso de fenilbutazona puede afectar especialmente a la médula ósea, habiendo sido relacionada con casos de anemia aplásica y, además, existen dudas sobre su efecto genotóxico y carcinogénico. En 1997, la Agencia Europea del Medicamento evaluó este compuesto con el objeto de establecer un Límite Máximo de Residuos (LMR) en alimentos de origen animal. Ante la inexistencia de datos que aseguraran su inocuidad, no se pudo establecer un LMR, y, por tanto, los animales tratados con fenilbutazona no pueden introducirse en la cadena alimentaria (EFSA, 2013).

La Directiva 96/23/CE (UE, 1996), relativa a las medidas de control aplicables respecto de determinadas sustancias y sus residuos en los animales vivos y sus productos, traspuesta en el Real Decreto 1749/1998 (BOE, 1998), incluye en su anexo I las sustancias que deben ser controladas por los Estados miembros dentro sus planes nacionales de investigación de residuos (PNIR en España). Entre estas sustancias, se encuentran los AINES, clasificados concretamente en el grupo B2e. Hasta ahora, la fenilbutazona se había detectado en carne de caballo en muy pocos casos.

Por otro lado, los Laboratorios de Referencia de la Unión Europea para residuos de medicamentos veterinarios publicaron en 2007 una guía técnica para mejorar y armonizar el funcionamiento de los métodos analíticos utilizados para las sustancias sin LMR establecido (BVL, 2007). En dicho documento, se fija una concentración mínima recomendada de 5 µg/kg, para los métodos de análisis de residuos de fenilbutazona y su metabolito, oxifenbutazona (OFBZ), en matrices como músculo, leche, riñón, hígado y plasma. Es decir, la capacidad de detección (CC β), en los métodos de cribado, o el límite de decisión (CC α), en los métodos de confirmación, deben ser inferiores o iguales a 5 µg/kg.

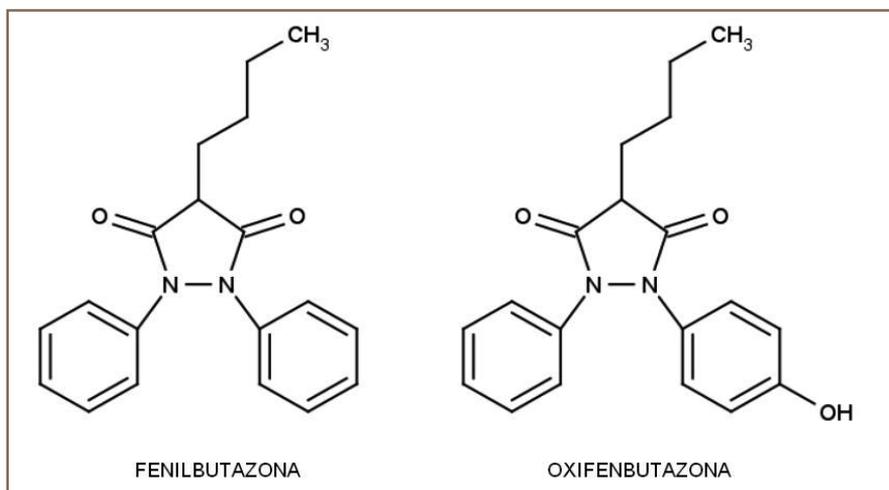


Figura 1. Estructuras químicas de la fenilbutazona y su metabolito la oxifenbutazona.

Ante la aparición en algunos Estados miembros de la Unión Europea de carne de caballo en productos elaborados en cuyo etiquetado no se reflejaba, la Comisión Europea publicó la Recomendación 2013/99/UE sobre un plan coordinado de control para establecer la prevalencia de prácticas fraudulentas en la comercialización de determinados alimentos (UE, 2013). Además del control de la presencia de carne de caballo en productos alimenticios comercializados o etiquetados como de carne de vacuno (Acción I), la Recomendación incluía el control de fenilbutazona en carne de caballo destinada al consumo humano (Acción II).

El objeto del presente trabajo fue dar cumplimiento a la Recomendación, para lo cual se desarrolló y validó un método analítico que permitiera el análisis de residuos de fenilbutazona en músculo de caballo con un límite de decisión suficientemente bajo (igual o inferior a 5 µg/kg). El método desarrollado permitió confirmar y cuantificar residuos de fenilbutazona a partir de 2 µg/kg, concentración inferior a la recomendada por el Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para residuos de AINES (BVL, Berlín) (EU-RL). La validación se realizó conforme a la Decisión 2002/657/CE (UE, 2002) en un intervalo de 2 a 30 µg/kg.

Método

1. Reactivos y patrones

Se utilizó acetonitrilo y metanol calidad HPLC (Lab Scan), ácido acético glacial, acetato sódico anhidro, n-hexano y acetato de etilo para análisis (Merck), ácido acético 99 % y ácido L-ascórbico (Sigma) y agua desmineralizada obtenida de un sistema Direct Q 5 (Millipore). Para preparar la solución de tampón de acetato sódico y ácido L-ascórbico a pH 4,5, se disolvieron 27 g de acetato sódico anhidro y 1,7 g de ácido L-ascórbico en 800 mL de agua desmineralizada, se ajustó el pH a 4,5 con ácido acético glacial para análisis y se enrasó a 1 L. Esta solución se preparó semanalmente y se conservó en refrigeración protegido de la luz. Para preparar la solución de ácido L-ascórbico 0,02 M, se disolvieron 3,52 g de ácido

L-ascórbico en 1 L de agua desmineralizada, siendo su preparación diaria y en envase topacio. Los cartuchos SPE utilizados fueron Bond Elut C₁₈ 500 mg 6cc (Varian). Para evaporar los extractos se utilizó un sistema de evaporación en corriente de nitrógeno y con temperatura controlada TurboVap (Caliper). Para filtrar los extractos finales antes de su inyección en el sistema de LC-MS/MS se usaron filtros de jeringa de PVDF 4 mm y 2 mm (Symta).

Los patrones empleados en este método fueron los siguientes: fenilbutazona (Sigma), oxifenbutazona (suministrado por el EU-RL) y fenilbutazona-(difeníl-¹³C₁₂) (Fluka).

Las soluciones patrón concentradas (400 ng/μL) se prepararon individualmente en acetonitrilo/metanol 90:10. A partir de las soluciones concentradas, se prepararon dos soluciones intermedias mezcla de fenilbutazona y oxifenbutazona, a unas concentraciones de 1 y 10 ng/μL. La solución intermedia, en el caso del patrón interno, fenilbutazona-(difeníl-¹³C₁₂) (FBZ-¹³C₁₂), se preparó a una concentración de 2 ng/μL. Se utilizaron tres soluciones mezcla de trabajo de diferentes concentraciones 0,04; 0,1 y 0,5 ng/μL, mientras que la concentración de la solución de trabajo de patrón interno fue de 0,1 ng/μL. En todas las soluciones patrón se utilizó la mezcla acetonitrilo/metanol 90:10 como solvente.

Las soluciones concentradas y mezcla intermedias se conservaron a -20 °C; y las soluciones mezcla de trabajo a 4 °C.

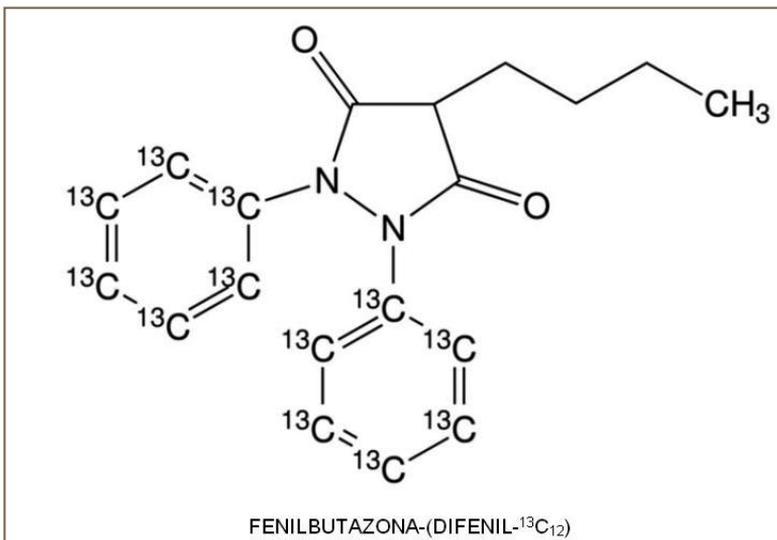


Figura 2. Estructura química de la fenilbutazona-(difeníl-¹³C₁₂), patrón interno utilizado en el método.

2. Equipo instrumental

Se utilizó un equipo LC-MS/MS, compuesto por: sistema de cromatografía Agilent serie 1100 y detector de triple cuadrupolo (AB Sciex 3200 Qtrap). Se empleó una columna de fase reversa ACE Excel C₁₈-PPF (150 x 3 mm, 3 µm) y filtro en línea (Phenomenex, AF0-8497), siendo la temperatura en el horno de columnas 40 °C. La temperatura del inyector automático se mantuvo a 15 °C. La separación cromatográfica se realizó con una fase móvil mezcla del solvente A: agua con 0,1 % de ácido acético; y del solvente B: acetonitrilo/ agua 90:10 con 0,1 % de ácido acético. La proporción utilizada durante los 8 minutos que duró cada análisis fue solvente A/solvente B 70:30 (isocrático), siendo el flujo 400 µL/min. El modo de ionización utilizado fue *electrospray* negativo (ESI⁻), con una temperatura de la fuente de 400 °C, voltaje del *spray* de ionización -4,5 kV, gas de nebulización 25 Psi, Gas turbo 70 Psi y Gas cortina 30 Psi. Se trabajó en modo MRM, monitorizándose dos transiciones para cada analito y una transición para el patrón interno. En la Tabla 1 se recogen los valores de Dwell, DP y CE para cada transición.

Tabla 1. Método de masas utilizado en el análisis de fenilbutazona y oxifenbutazona

Compuesto	Transiciones	Dwell (msec)	DP (V)	CE (V)
Fenilbutazona	307,2 > 131,1*	150,0	-45	-30
	307,2 > 92,0	150,0	-45	-50
Oxifenbutazona	323,0 > 134,0*	150,0	-50	-34
	323,0 > 295,0	150,0	-50	-26
Fenilbutazona- ¹³ C ₁₂	319,2 > 98,1	150,0	-50	-52

*Transiciones utilizadas para la cuantificación.

3. Extracción y purificación

A 1 g de muestra de músculo previamente homogeneizado se añaden 50 µL de solución de trabajo de patrón interno. Transcurridos 10 minutos, se añaden 2 mL de tampón acetato sódico/ácido L-ascórbico pH 4,5 y se agita vigorosamente 20 segundos. Seguidamente, se añaden 5 mL de acetonitrilo, se agita durante 10 minutos y se centrifuga a 4.750 rpm durante aproximadamente 10 minutos. Se recoge el sobrenadante en un tubo de polipropileno de 50 mL y se reserva. Se añade al residuo 2,5 mL de acetonitrilo y, después de agitar y centrifugar, se recoge nuevamente el sobrenadante el cual se une al obtenido en el paso anterior. A continuación, se añaden 2,5 mL de n-hexano al extracto, se agita durante 10 minutos y se centrifuga a 4.000 rpm unos 10 minutos. Con ayuda de una pipeta Pasteur, se elimina la capa superior. Se repite nuevamente la extracción con otros 2,5 mL de n-hexano. La capa inferior se transfiere a un tubo de polipropileno de 12 mL y se evapora en TurboVap a 50 °C hasta un volumen aproximado de 2 mL. Se añaden 8 mL de ácido L-ascórbico 0,02 M y se mezcla bien.

La extracción en fase sólida se lleva a cabo con cartuchos Bond Elut C₁₈, los cuales se acondicionan pasando sucesivamente 10 mL de metanol y 10 mL de ácido L-ascórbico 0,02 M. A continuación, se pasa el extracto de muestra y, seguidamente, se lava con 2 mL de ácido L-ascórbico 0,02 M y 2 mL de agua desmineralizada. Los cartuchos se secan con fuerte vacío y bajo corriente de nitrógeno durante unos 45 minutos. Posteriormente, se pasan 2 mL de n-hexano y se secan los cartuchos de nuevo durante 2 minutos. Finalmente, se eluyen con 4 mL de la solución de n-hexano/acetato de etilo 50:50. El eluato se

evapora a sequedad en TurboVap a una temperatura de 50 °C. Se resuspende con 200 µL de la solución de acetonitrilo/metanol 90:10. Previamente a la inyección se filtra el extracto final con un filtro de jeringa PVDF. El volumen de inyección en el sistema LC-MS/MS es 5 µL.

4. Validación

Para la validación se utilizaron 22 muestras de músculo de caballo de diferente procedencia. No se encontraron residuos de FBZ, OFBZ u otros picos interferentes en ninguna de ellas.

La linealidad se estudió en rectas de calibrado externas, sin matriz, a los siguientes niveles de concentración 0, 2, 5, 7,5, 10, 30 y 40 µg/kg, obteniéndose un coeficiente de determinación (R^2) > 0,998 y un coeficiente del error típico de la pendiente (C_m) \geq 95 %. En la Figura 3 se representa el conjunto de las rectas de calibrado obtenidas en la validación, así como la recta global y el intervalo de confianza al 95 %.

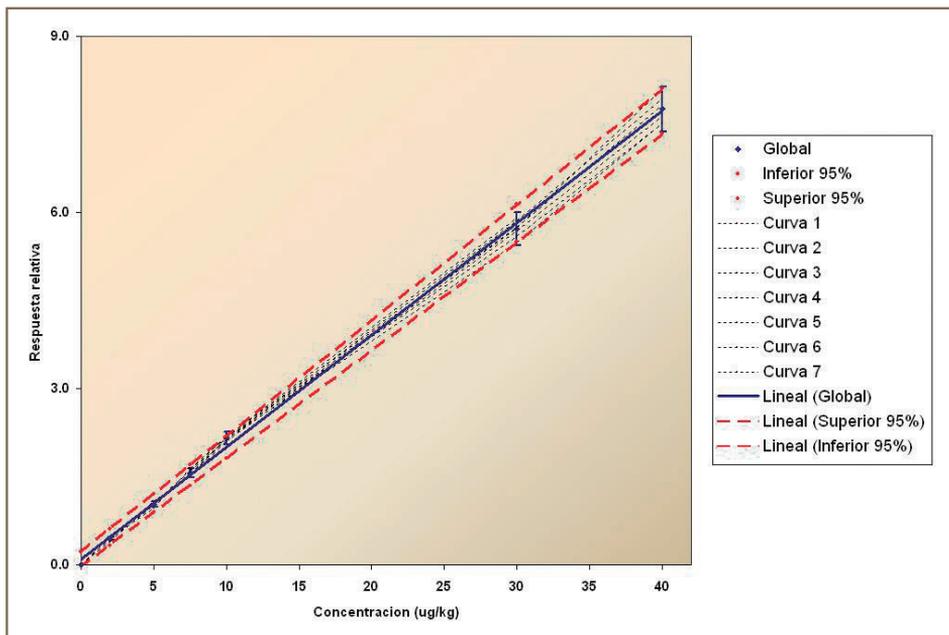


Figura 3. Rectas de calibrado obtenidas en la validación.

Se estudió la precisión (repetibilidad y reproducibilidad) y la recuperación sobre muestras adicionadas a tres niveles de concentración: 2, 10 y 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($n=18$). Los resultados se resumen en la Tabla 2. El límite de decisión ($CC\alpha$) se fijó en 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, con un 100 % de adiciones confirmadas a este nivel, y la capacidad de detección ($CC\beta$) calculada fue 2,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Tabla 2. Resumen de los resultados de precisión (repetibilidad y reproducibilidad) y recuperación obtenidos en la validación del método

Parámetros	Fenilbutazona (FBZ)		
	Concentración estudiada ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	2,0	10,0	30,0
Repetibilidad (CV%)	6,06	3,79	5,29
Reproducibilidad (CV%)	12,65	8,44	5,71
Recuperación (% sesgo)	-9	9	-2

Para comprobar el funcionamiento del método se utilizó un material de referencia de músculo de bovino suministrado por el EU-RL, con una concentración de $23,2 \pm 1,7 \mu\text{g}/\text{kg}$. El resultado obtenido fue $23,3 \pm 1,4 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($n=5$), en condiciones de reproducibilidad, con lo que se demostró la adecuada veracidad del método.

Resultados y discusión

El método desarrollado se basa en el procedimiento analítico para la determinación de 14 antiinflamatorios no esteroideos en músculo e hígado implementado por el Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para AINES (Stoyke y Gowik, 2005) (Stoyke et al., 2006).

Dicho procedimiento fue simplificado, ya que el objeto de este trabajo era únicamente el análisis de fenilbutazona y, por tanto, el paso de hidrólisis enzimática podía evitarse, debido a que los residuos de fenilbutazona no se encuentran en forma conjugada (glucuronatos o sulfatos), como sí ocurre en el caso del carprofeno y otros AINES (Walton et al., 2001). Además, el hecho de utilizar un patrón interno de un comportamiento químico análogo al del analito, fenilbutazona-(difenil- $^{13}\text{C}_{12}$), permitió trabajar con rectas de calibración externas, sin la presencia de matriz, lo cual simplificó en gran medida las series de trabajo, tanto en validación como durante la realización de los análisis de las muestras. Asimismo, se eliminó el paso de acidificación a pH 1,5-2 posterior a la hidrólisis enzimática incluido en el método del EU-RL, ya que se comprobó que se producía la degradación de FBZ y OFBZ. Este efecto sobre la fenilbutazona, ya fue descrito por Grippa et al. (2000). Por otro lado, se comprobó que la proporción más óptima orgánico/acuoso (acetonitrilo/ácido L-ascórbico 0,02 M) para favorecer la retención en el cartucho SPE era 1:4. En el paso de elución del cartucho se optó por una mezcla n-hexano/acetato de etilo 50:50 utilizada por Jedziniak et al. (2010), en lugar de la elución en dos pasos descrita en el método del EU-RL, ya que el segundo paso de elución utilizando una mezcla de acetonitrilo/metanol, producía extractos con más interferencias, como ya indicaron Jedziniak et al. (2010).

La oxifenbutazona, metabolito de la fenilbutazona, fue incluida en todos los análisis, observándose que el patrón interno utilizado no era adecuado para su cuantificación. El análisis de OFBZ con el presente

método, requeriría la inclusión de otro patrón interno más adecuado para este compuesto. No obstante, no se detectaron residuos de OFBZ en ninguno de los análisis realizados.

El extracto se inyecta en el equipo LC-MS/MS en una mezcla acetonitrilo/metanol 90:10, es decir, 100 % orgánico. Teniendo en cuenta que la composición de la fase móvil tenía un porcentaje acuoso cercano al 40 %, se redujo el volumen de inyección a 5 μ L para evitar problemas en la cromatografía. Asimismo, el modo de trabajo isocrático resultó adecuado para separar la fenilbutazona, la oxifenbutazona y, también, otros picos cromatográficos que se detectaban en las mismas transiciones que los analitos y el patrón interno, aunque a tiempos de retención inferiores. Estos picos podrían corresponder a productos de degradación de la FBZ, OFBZ y así como del patrón interno, FBZ- $^{13}\text{C}_{12}$, ya que, simultáneamente, se observaba una disminución en su señal y un aumento en la señal de los picos con TR inferior. Estos picos presentaban habitualmente áreas muy pequeñas (Figuras 4 y 5), pero ocasionalmente, su señal aumentaba en detrimento de los analitos estudiados, FBZ y OFBZ (Figura 6). Podría tratarse de γ -hidroxi derivados (NTP, 1990), lo cual explicaría que los tiempos de retención fueran menores (debido a su mayor polaridad) y también, que las transiciones MRM fueran iguales a los compuestos precursores, FBZ, OFBZ y FBZ- $^{13}\text{C}_{12}$, ya que el grupo hidroxilo en posición γ de la cadena butílica se perdería en la fuente de ionización. Estos productos de degradación parecen formarse en oxidaciones ocurridas durante el proceso analítico, ya que no han sido detectados en las inyecciones directas de soluciones patrón. Gowik et al. (1998) describen la necesidad de utilizar ácido L-ascórbico, como agente antioxidante, durante todo el proceso de análisis, para evitar la degradación de algunos AINES, y en especial de FBZ y OFBZ. Este efecto fue confirmado durante el desarrollo del presente método. Por tanto, para evitar la degradación de FBZ y OFBZ, es importante prestar atención a la caducidad y las condiciones de conservación de las soluciones de ácido L-ascórbico (refrigeración y protegido de la luz). La detección de estos derivados de mayor polaridad, fue posible por la monitorización del cromatograma completo. En el caso de procedimientos de análisis que dividan el método de masas en varios segmentos se podría observar la disminución de la señal de los analitos (FBZ, OFBZ y FBZ- $^{13}\text{C}_{12}$) sin detectar los productos de degradación.

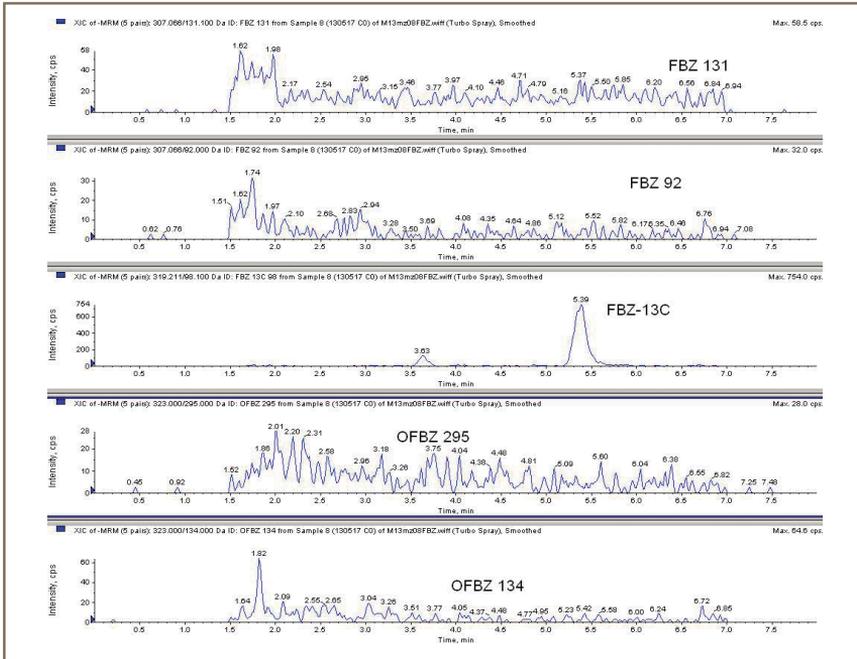


Figura 4. Cromatogramas de músculo de caballo sin residuos de FBZ ni OFBZ.

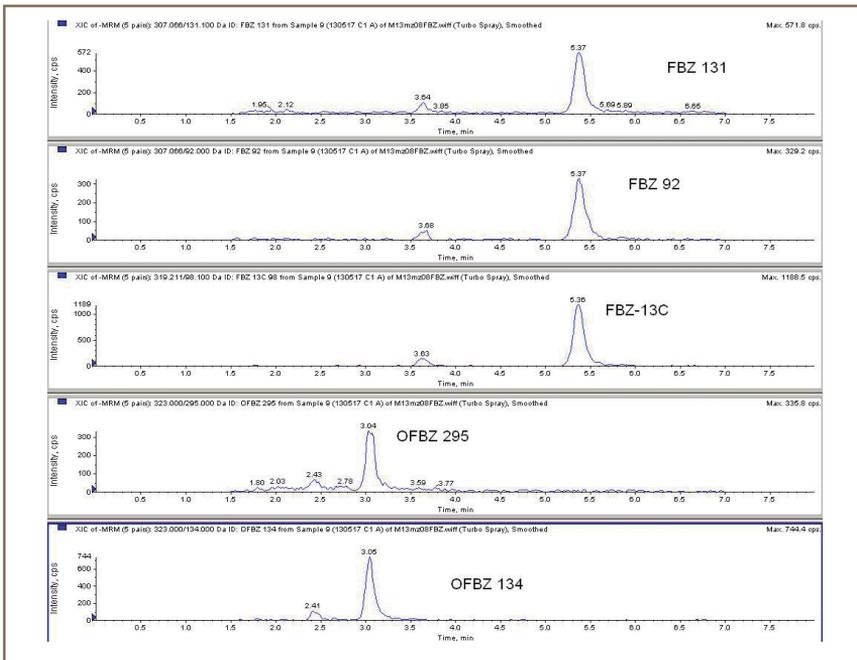


Figura 5. Cromatogramas de músculo de caballo adicionado a 2 µg/kg.

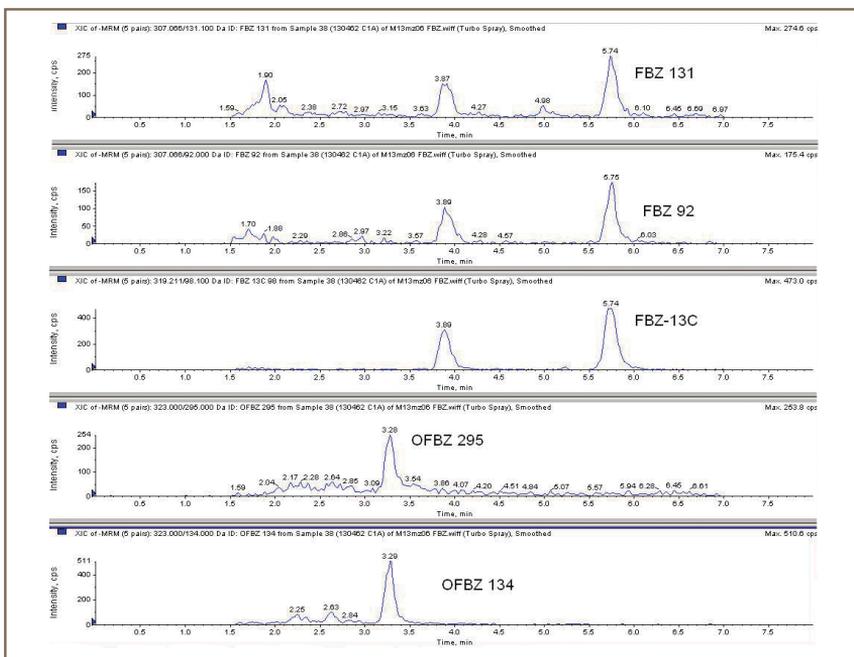


Figura 6. Cromatogramas de músculo de caballo adicionado a 2 µg/kg, en los que se aprecia un aumento en la señal de los productos de degradación.

En cumplimiento de la Recomendación de la Comisión 2013/99/UE (UE, 2013), el método desarrollado fue aplicado a un total de 108 muestras de músculo de caballo, procedentes de diez comunidades autónomas. En ningún caso se detectaron residuos de fenilbutazona ni de su metabolito, oxifenbutazona.

Referencias

- BOE (1998). Real Decreto 1749/1998, de 31 de julio, por el que se establecen las medidas de control aplicables a determinadas sustancias y sus residuos en los animales vivos y sus productos. BOE 188 de 7 de agosto de 1998, pp: 26910-26927.
- BVL (2007). Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. CRL Guidance Paper (7 december 2007): CRLs view on state of the art analytical methods for national residue control plans. Disponible en: http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/09_Untersuchungen/EURL_Empfehlungen_Konzentrationsauswahl_Methodenvalidierungen.pdf?__blob=publicationFile [acceso: 8-5-13].
- EFSA (2013). European Food Safety Authority. FAQ-Phenylbutazone in horse meat. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/faqs/phenylbutazone.htm> [acceso: 8-5-13].
- Grippa, E., Santini, L., Castelano, G., Gatto, M.T., Leone, M.G. y Saso, L. (2000). Simultaneous determination of hydrocortisone, dexamethasone, indomethacin, phenylbutazone and oxyphenbutazone in equine serum by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 738 (1), pp: 17-25.
- Gowik, P., Jülicher, B. y Uhlig, S. (1998). Multi-residue method for non-steroidal anti-inflammatory drugs in plasma using high-performance liquid chromatography–photodiode-array detection: Method description and comprehensive in-house validation. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 716 (1-2), pp: 221-232.

- Jedziniak, P., Szprengier-Juskiewicz, T., Olejnik, M. y Zmudzki, J. (2010). Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs residues in animal muscles by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analitica Chimica Acta*, 672, pp: 85-92.
- NTP (1990). National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of phenylbutazone. Technical Report Series No. 367. U.S. Department of Health and Human Services. Disponible en: http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr367.pdf [acceso: 8-5-13].
- Stoyke, M. y Gowik, P. (2005). Confirmatory method for the determination of acid NSAIDs in muscle, liver and kidney with LC-MS-MS. NSAI_004. Procedimiento Normalizado de Trabajo del BVL (EU-RL-Berlin).
- Stoyke, M., Bieber, C., Mönch, S. y Gowik, P. (2006). Confirmatory method for the determination of acid NSAIDs in muscle, liver and kidney with LC-MS/MS. Poster and Abstract book (215) of 5th International Symposium on Hormone and Veterinary Drug Analysis. Antwerp, Belgium, 16-19 de mayo, 2006.
- UE (1996). Directiva 96/23/CE del Consejo, de 29 de abril de 1996, relativa a las medidas de control aplicables respecto de determinadas sustancias y sus residuos en los animales vivos y sus productos y por la que se derogan las Directivas 85/358/CEE y 86/469/CEE y las Decisiones 89/187/CEE y 91/664/CEE. DO L 125 de 23 de mayo de 1996, pp: 10-32.
- UE (2002). Decisión de la Comisión 2002/657/CE, del 12 de agosto de 2002, por la que se aplica la Directiva 96/23/CE del Consejo en cuanto al funcionamiento de los métodos analíticos y la interpretación de los resultados. DO L 221 de 17 de agosto de 2002, pp: 8-36.
- UE (2013). Recomendación de la Comisión 2013/99/UE, de 19 de febrero de 2013, sobre un plan coordinado de control para establecer la prevalencia de prácticas fraudulentas en la comercialización de determinados alimentos. DO L 48 de 21 de febrero de 2013, pp: 28-32.
- Walton, K., Dorne, J.L. y Renwick, A.G. (2001). Uncertainty factors for chemical risk assessment: interspecies differences in glucuronidation. *Food and Chemical Toxicology*, 39 (12), pp: 1.175-1.190.

Si desea citar un Informe del Comité Científico de la AESAN en una publicación científica, le sugerimos que siga este modelo, adaptándolo al estilo de citación requerido por la publicación de destino.

Rodríguez-Ferri, E., Badiola-Díez, J.J., Cepeda-Sáez, A., Domínguez-Rodríguez, L., Otero-Cardalleira, A. y Zurera-Cosano, G. Grupo de trabajo. (2009). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la evisceración de los lagomorfos. Revista del Comité Científico de la AESAN, 9, pp: 31-38.

Abreviatura revista: Rev. Com. Cient. AESAN



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE SANIDAD,
SERVICIOS SOCIALES
E IGUALDAD



AGENCIA
ESPAÑOLA DE
CALIDAD,
ACCESIBILIDAD Y
SERVICIO